

Exploración de los procesos cognitivos: metodología y técnicas

4

J. A. Periañez Morales, R. Miranda García y M. Ríos Lago

☑ Resumen conceptual

- ✓ En el presente capítulo se aborda una introducción a las técnicas existentes en el momento actual para el desarrollo de los objetivos de la disciplina científica denominada neurociencia cognitiva. Este campo del conocimiento en continuo desarrollo, centrado en esclarecer las relaciones entre el cerebro y la conducta, dispone hoy de un sofisticado arsenal de procedimientos y metodologías que derivan en buena medida de las aportaciones históricas de disciplinas básicas y aplicadas como la biología, la psicología cognitiva, la neurología, etc.
- ✓ En la primera parte del capítulo se revisan algunos de los principales hitos históricos por los cuales se comenzó a describir la anatomía macroscópica del cerebro y de los que posteriormente se derivaron muchos de los actuales procedimientos técnicos.
- ✓ El capítulo continúa describiendo algunas de las principales técnicas modernas para el estudio de la anatomía cerebral microscópica (microscopio óptico y electrónico) en tejidos, para alcanzar las técnicas de neuroimagen estructural y su aplicación en el estudio del tejido cerebral *in vivo* (tomografía computarizada y resonancia magnética), así como algunas de las más modernas aplicaciones de la resonancia magnética como el tensor de difusión para el estudio de la microestructura de la sustancia blanca cerebral.
- ✓ El tercer apartado se centra en la descripción de las técnicas que permiten la medición de la actividad eléctrica del cerebro, desde la perspectiva microscópica de las neuronas únicas o los pequeños grupos neuronales hasta la perspectiva macroscópica que ofrecen técnicas de registro como el electroencefalograma y los potenciales evocados o los más modernos desarrollos en torno a la magnetoencefalografía.
- ✓ El cuarto apartado se centra en la descripción de las técnicas consideradas propiamente de «neuroimagen funcional» incluyendo tanto aquellas cuya señal procede de procesos celulares metabólicos, como la tomografía por emisión de positrones, como las que obtienen su señal de los cambios de las propiedades hemodinámicas, como la resonancia magnética funcional.
- ✓ En el quinto y último apartado se detallan las características del método lesional en sus diversas vertientes de aplicación (lesiones experimentales, reversibles y adquiridas). En dicho apartado se hará hincapié en los métodos empleados por la neuropsicología en la medida que suponen una importante fuente de datos experimentales para contrastar las hipótesis de los modelos de la neurociencia cognitiva.

🎯 Objetivos de aprendizaje

- Conocer la clasificación de las principales técnicas empleadas en la exploración de los procesos cognitivos.
- Diferenciar los conceptos de resolución espacial, resolución temporal e invasividad, que permiten clasificar los diferentes procedimientos de estudio de las bases cerebrales de los procesos cognitivos.
- Conocer y diferenciar las distintas fuentes de datos de las que la neurociencia cognitiva obtiene información sobre la anatomía y el funcionamiento cerebrales.
- Comprender la complementariedad de dichos procedimientos y técnicas en el estudio de los procesos cognitivos y cerebrales.
- Familiarizarse con el vocabulario técnico propio de los métodos y técnicas del estudio de las bases cerebrales de la cognición.
- Descubrir la importancia de la interdisciplinariedad existente en la investigación en neurociencia cognitiva.

■ INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos, uno de los avances más importantes en relación con el estudio de las bases cerebrales de los procesos cognitivos y la conducta ha venido de la mano

del desarrollo de las nuevas tecnologías para obtener imágenes cerebrales *post mortem* e *in vivo*. Estas técnicas proporcionan información cualitativa y cuantitativa nueva respecto a las propiedades y al funcionamiento del sistema de procesamiento de la información que es el cerebro. En este capi-

tulo se revisarán algunos de los principales métodos que han sido empleados tradicionalmente en neurociencia para el estudio de la anatomía y las bases cerebrales de los procesos cognitivos. A modo introductorio, la figura 4-1 ofrece una visión panorámica general sobre algunas de las técnicas y métodos de investigación, que al día de hoy, están suponiendo un importante avance en el estudio de la relación entre el cerebro y la conducta desde la perspectiva de la neurociencia cognitiva.

■ ESTUDIO DE LA ANATOMÍA CEREBRAL

La exploración macroscópica del encéfalo constituyó una de las primeras aproximaciones al estudio del cerebro.

La neuroanatomía centra su atención en el estudio de la estructura del sistema nervioso y en el establecimiento de divisiones entre las distintas partes que lo componen.

La investigación neuroanatómica ha establecido otro de sus principales focos de interés en el estudio del modo en que dichas regiones cerebrales están interconectadas entre sí. Por

un lado, la observación externa del cerebro de cualquier animal proporciona información general con respecto a la existencia de partes bien diferenciadas, como el tronco del encéfalo, el cerebro o el cerebelo. Además, el examen visual de la corteza cerebral permite establecer distintas divisiones en función de la presencia de grandes surcos o cisuras que recorren la superficie de dicha corteza. Dichos surcos establecen la base de la diferenciación de los cuatro lóbulos cerebrales, pudiendo incluso distinguir la existencia de surcos más pequeños dentro de cada uno de dichos lóbulos. La observación y la cuantificación de estas diferencias constituyen, aún hoy, una fuente de interés para el estudio de la neuroanatomía comparada o el estudio de las relaciones entre la complejidad de la anatomía macroscópica y la complejidad conductual de las distintas especies. Si además se efectuara la disección del cerebro, se podrían establecer divisiones entre las distintas partes internas que se ocultan bajo la corteza cerebral. Así, resulta relativamente sencillo diferenciar, a simple vista, la sustancia blanca de la sustancia gris o algunos de los principales núcleos cerebrales subcorticales como el tálamo, el hipotálamo o los ganglios basales (Fig. 4-2). Sin embargo, esta visión superficial resulta insuficiente para saber que la sustancia gris está formada por millones de cuerpos celulares de neuronas y glía, o que la sustancia blanca está formada por fibras nerviosas pro-

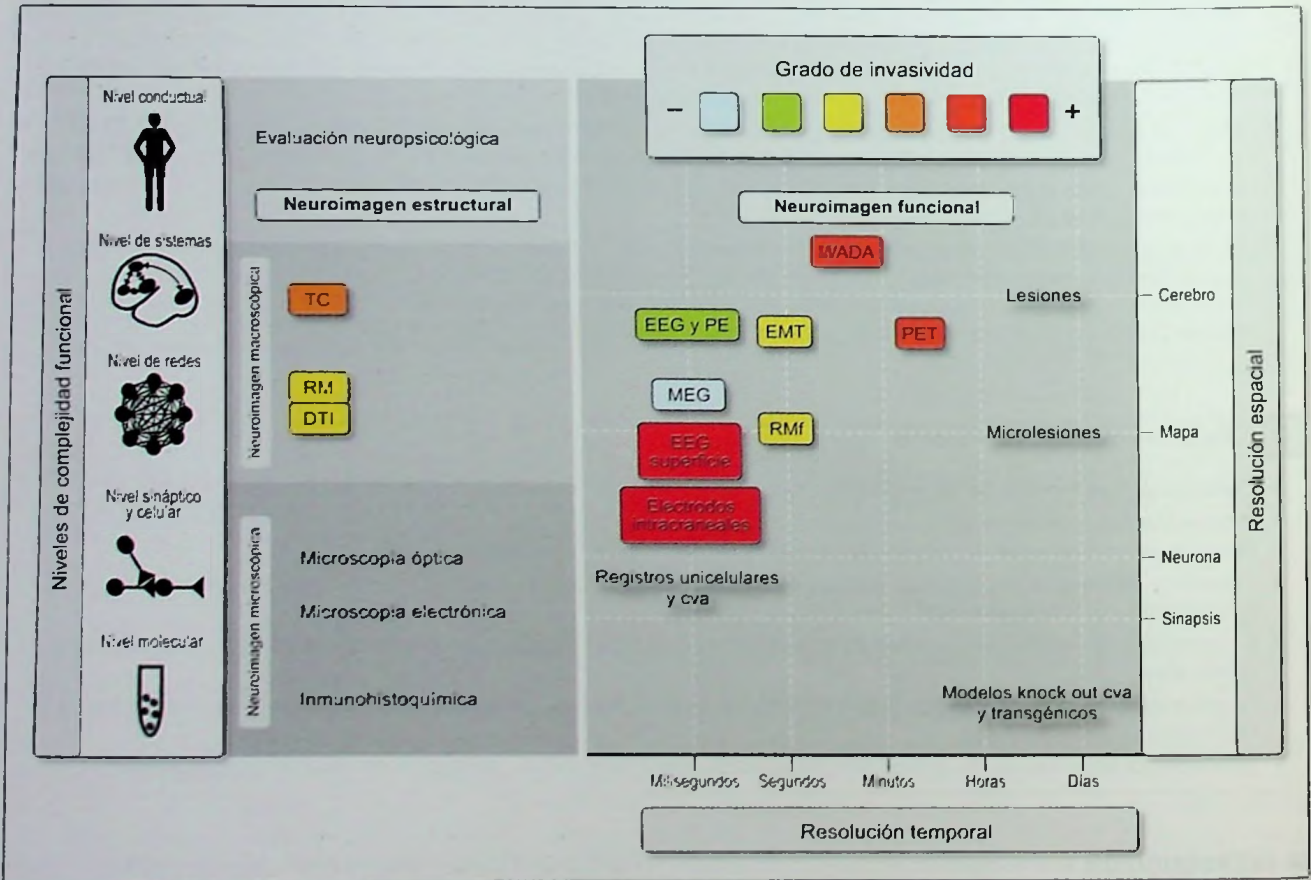


Figura 4-1. Representación gráfica de diferentes métodos y técnicas de investigación empleadas en neurociencia cognitiva en función de su resolución espacial y temporal. EEG: electroencefalografía; EMT: estimulación magnética transcranial; MEG: magnetoencefalografía; PE: potenciales evocados; PET: tomografía por emisión de positrones; RM: resonancia magnética; RMf: resonancia magnética funcional; TC: tomografía computarizada; WADA: test de Wada (prueba del amital sódico).

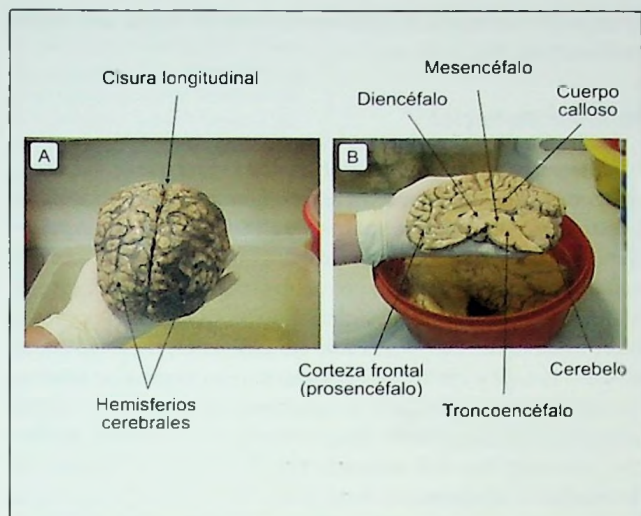


Figura 4-2. Anatomía cerebral macroscópica de un cerebro humano. La observación macroscópica del cerebro permite identificar sus principales componentes anatómicos, así como ciertas alteraciones. En el examen de la superficie del cerebro se puede observar el aspecto plegado de la corteza cerebral. Los grandes surcos o cisuras sirven de referencia para dividir los hemisferios (A) y los cuatro grandes lóbulos del cerebro. Realizando cortes sagitales del cerebro es posible además identificar nuevas regiones de corteza cerebral y la disposición de estructuras subcorticales (B).

cedentes de neuronas situadas en diferentes regiones de la corteza y núcleos subcorticales distales.

Así pues, la falta de las herramientas y tecnologías apropiadas llevó a muchos investigadores a obtener ideas erróneas sobre la relación entre la anatomía y la función cerebral en momentos precedentes de la historia de la neurociencia. Sin duda, la frenología constituye uno de esos ejemplos paradigmáticos (F. J. Gall y J. G. Spurzheim entre 1810 y 1819).

La frenología fue la corriente de pensamiento que proponía que el tamaño de determinadas regiones cerebrales, inferido a través de abultamientos o hundimientos observables en el cráneo de los individuos, podía relacionarse con el mayor o menor desarrollo de determinadas cualidades intelectuales o rasgos de personalidad.

Estas ideas, demostradas erróneas a día de hoy, podrían atribuirse en buena medida a la ausencia de técnicas de observación adecuadas diferentes a la mera inspección visual o palpación de las cabezas. En contraposición a aquellos que rechazaron un estudio serio de las bases estructurales de las funciones cognitivas, microscopistas como Anton Van Leeuwenhoek (1632-1723) colaboraron de forma importante al avance de las neurociencias al facilitar el desarrollo de métodos e instrumentos ópticos primitivos que permitirían así el paso de los años describir la estructura microscópica del tejido nervioso. Como se verá más adelante, el desarrollo de diversas técnicas de fijación, seccionado y tinción de tejido, en combinación con los avances progresivos en microscopía óptica, electrónica o láser confocal han permitido incrementar consi-

derablemente el conocimiento sobre la estructura y la función del sistema nervioso. En definitiva, la evolución de estas técnicas ha sido clave para la descripción de las características morfológicas de diferentes células nerviosas, las conexiones que establecen para comunicarse entre sí o sinapsis, así como su naturaleza química o molecular.

En los siguientes apartados se describirán en más detalle algunas de las principales técnicas empleadas en neurociencia para la exploración de la anatomía del sistema nervioso, tanto a nivel microscópico como a nivel macroscópico.

Técnicas de estudio del tejido nervioso *post mortem*

Como ya se ha señalado, gran parte del conocimiento acerca de la organización anatómica del sistema nervioso se debe a la observación *post mortem* del cerebro. Si bien la observación macroscópica constituye un primer paso en el análisis anatomopatológico necesario para el estudio de las causas de alteraciones conductuales en pacientes neurológicos, para un conocimiento más detallado de la organización del sistema nervioso y sus alteraciones asociadas con déficits cognitivos, es necesario acudir al estudio microscópico de tejidos. En este apartado se revisarán las principales técnicas histológicas que permiten realizar el estudio microscópico del tejido nervioso y conocer diversos aspectos de su organización estructural y de las propiedades morfológicas de las células nerviosas. Asimismo, se detallarán algunos de los contextos experimentales de aplicación de estas técnicas y se mostrará cómo a través de la observación microscópica es igualmente posible analizar determinados aspectos de la función del sistema nervioso.

Fijación y seccionado del tejido nervioso

El objetivo principal del estudio de tejidos *post mortem* es reconocer las estructuras en las condiciones más cercanas al tejido vivo.

Para ello, se hace necesario detener los procesos de degradación tisular y celular que siguen a la muerte mediante el tratamiento del tejido con procesos químicos o criógenos de fijación. La fijación química puede realizarse por inmersión directa de las muestras en líquido fijador o por medio de perfusión vascular. La técnica de perfusión vascular consiste en la sustitución de la sangre por otro líquido y es muy común en los trabajos con animales experimentales, dado que generalmente asegura un mejor resultado en el análisis histológico al eliminar la sangre del tejido. Antes de comenzar con esta operación se induce la muerte del animal de la forma menos traumática posible, habitualmente por sobredosis de agentes anestésicos. Para la perfusión se aprovecha el sistema circulatorio, rompiendo los vasos sanguíneos en un punto y permitiendo así el vaciado de la sangre y su sustitución por una solución salina lavadora o un líquido fijador que con la ayuda, por ejemplo, de un sistema externo de bombeo, penetra en el sistema nervioso deteniendo el proceso de autólisis del tejido. Los químicos fijadores más habituales son aldehídos como el formaldehído,

paraformaldehído o glutaraldehído, preparados en solución acuosa. El tratamiento del tejido nervioso con estos fijadores interrumpe la degradación natural del tejido y facilita su conservación y almacenamiento para realizar análisis posteriores, al evitar la descomposición inducida por microorganismos como bacterias o mohos. Alternativamente, las muestras de tejido se pueden conservar y estudiar sin fijación química mediante procesos de congelación a muy bajas temperaturas. Esta fijación por congelación detiene también la descomposición de los tejidos y suele ser necesaria para realizar análisis histológicos que se verían alterados por el uso de fijadores químicos.

Una vez que se dispone de muestras de tejido fijadas, es necesario laminar el tejido en secciones finas para su observación microscópica. El grosor de las secciones varía en función del microscopio y la técnica histológica empleados. En microscopía óptica y láser confocal el grosor de las secciones suele oscilar en el intervalo de varios micrómetros (10-60 μm), mientras que para la observación en el microscopio electrónico de transmisión el grosor secciones de tejido ha de estar en el orden de varios nanómetros (40 a 80 nm).

➤ Micrómetros o micras (μm), nanómetros (nm) y angstrom (\AA) son submúltiplos de la unidad de longitud o metro (m) en el sistema métrico o sistema internacional de medidas [$1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$; $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$; $1 \text{\AA} = 10^{-10} \text{ m}$].

El tejido nervioso en fresco carece de la rigidez necesaria para poder ser cortado en secciones tan finas. Los fijadores químicos endurecen el tejido, pero no de forma suficiente para obtener secciones de micrómetros y aún menos de nanómetros de grosor. Así pues, se hace necesario incluir el tejido en algún medio que una vez solidificado garantice la consistencia o dureza necesarias para obtener secciones finas o ultrafinas con un grosor estable en series de cortes sucesivos. El proceso de inclusión requiere un tratamiento adicional del tejido, que generalmente consiste en la eliminación del agua de las muestras mediante el paso por una cadena de alcoholes en concentración creciente. Una vez deshidratado, el tejido puede incluirse en parafinas o resinas líquidas (medios no miscibles en agua) que una vez enfriadas o polimerizadas a altas temperaturas, respectivamente, formarán bloques sólidos apropiados para ser seccionados con la ayuda de instrumentos de precisión: microtomo para grosor de micrómetros (v. Material web. Animaciones y vídeos. Vídeo 1. Seccionado en microtomo de tejido nervioso incluido en parafina) o ultramicrotomo para grosor de nanómetros (v. Material web. Animaciones y vídeos. Vídeo 2. Corte seriado en ultramicrotomo de secciones ultrafinas de tejido nervioso incluido en resina). Por otro lado, las muestras congeladas adquieren una rigidez suficiente y no requieren pasar por un proceso de inclusión, siendo posible ser cortadas a bajas temperaturas en secciones micrométricas con ayuda de un criostato que consiste básicamente en un microtomo provisto de una cámara frigorífica que evita la desgelación del tejido durante el seccionado (v. Material web. Animaciones y vídeos. Vídeo 3. Seccionado en criostato de tejido nervioso congelado). Alternativamente, existen otros instrumentos, como el vibratomo, que permiten extraer secciones micrométricas aunque algo más gruesas (50-300 μm) cuando

se requiere trabajar con tejido fresco o poco fijado con escasa consistencia (Fig. 4-3).

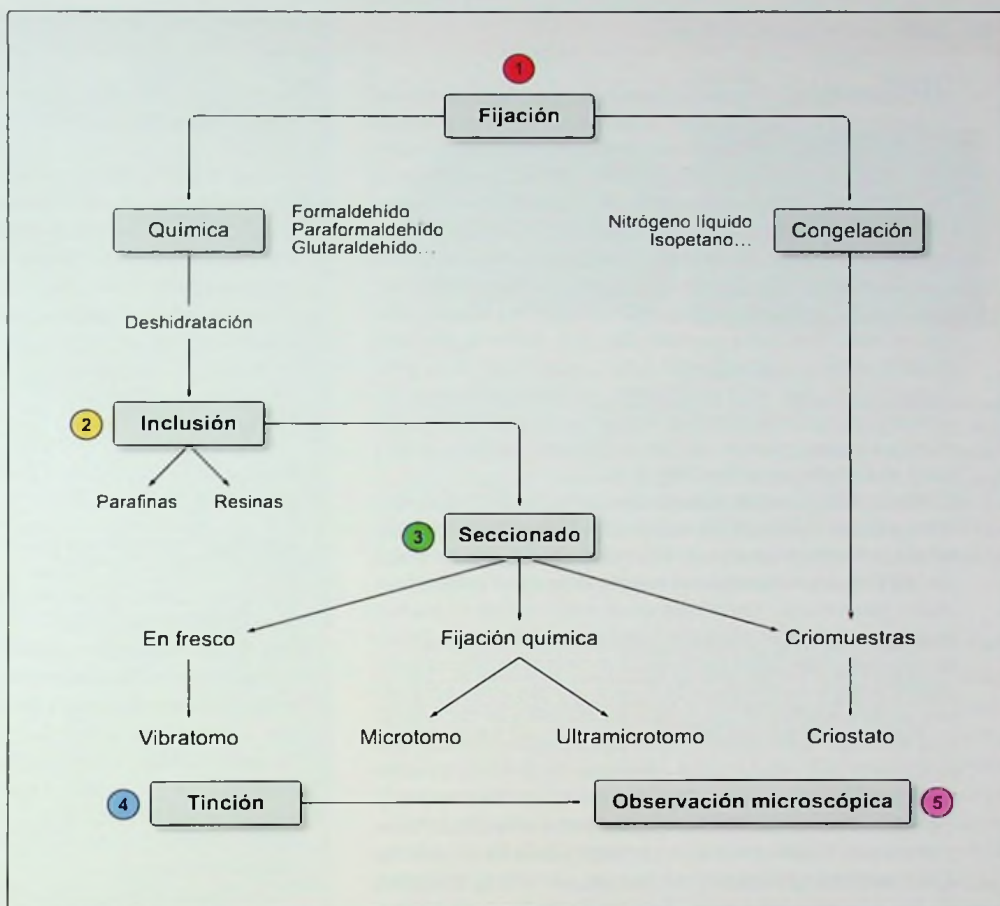
Métodos de tinción

El tejido nervioso en secciones finas visto a través del microscopio óptico presenta un escaso contraste, lo que dificulta el estudio de sus características estructurales. En su observación directa apenas es posible distinguir más que regiones de sustancia blanca, formadas por axones mielinizados, y algunas regiones de sustancia gris donde se acumulan los somas o cuerpos de las células nerviosas. Para incrementar el contraste se suele acudir a distintos colorantes o tinciones que resaltarán diferentes propiedades y componentes celulares o subcelulares del tejido nervioso. El conocimiento de las características histológicas del sistema nervioso ha ido ligado al desarrollo de distintas técnicas de tinción. Por ejemplo, con la ayuda de estas técnicas se ha logrado diferenciar y clasificar numerosos tipos de neuronas y células de glía así como su distribución en el sistema nervioso. Las agrupaciones de estas células nerviosas con características anatómicas y topográficas similares reciben la denominación de núcleos o áreas cerebrales y sobre ellas se han realizado mapas citoarquitectónicos o atlas estereotáxicos, con su posición precisa y extensión en el cerebro. Asimismo, se ha hecho posible identificar las prolongaciones citoplasmáticas características de las neuronas, dendritas y axones, que forman la intrincada red de comunicación nerviosa que determina la función cerebral (Recuadro 4-1).

Ultraestructura del sistema nervioso: microscopía electrónica

La introducción del microscopio electrónico en la década de 1930, con su capacidad de aumento hasta más de un millón de veces, revolucionó la histología del sistema nervioso, al permitir observar sus elementos de menor tamaño o ultraestructurales. A mediados del siglo XX se produjo la primera observación de una sinapsis química, la que demostró que entre el elemento presináptico y el postsináptico existía un separación o hendidura sináptica (Fig. 4-6), lo que supuso un importante apoyo a la consolidación de la doctrina neuronal de Cajal. La observación a través de secciones ultrafinas (40-80 nm de grosor) y teñidas con metales pesados (v. Material web. Animaciones y vídeos. Vídeo 4. Tinción de secciones ultrafinas) es posible gracias al microscopio electrónico de transmisión. Sin embargo, es igualmente posible observar el relieve en muestras biológicas gracias al microscopio electrónico de barrido. En este caso, las muestras son tratadas con materiales (comúnmente carbono u oro) que no permiten el paso de electrones al interior de la muestra, al tiempo que aportan conductancia a la superficie. La muestra así cubierta es literalmente barrida por un haz de electrones que se verán dispersados y captados por detectores específicos que permitirán construir una imagen tridimensional y de alta resolución de la superficie de la muestra con un aumento de hasta 200.000 veces su tamaño original. A pesar de existir métodos como la criofractura, que permiten obtener imágenes a través del microscopio de barrido de la superficie de diferentes componentes del tejido nervioso, la aplicación de este microscopio al estudio de la es-

Figura 4-3. Esquema del procesamiento histológico. Antes de proceder a la observación microscópica *post mortem* del tejido nervioso es necesario pasar por una serie de pasos de procesado histológico. En principio (1), las muestras son tratadas químicamente o mediante congelación para evitar su degradación (fijación). En un segundo momento (2), las muestras fijadas químicamente han de ser incluidas en parafinas o resinas para dotar al tejido de la consistencia necesaria para poder obtener secciones (3) finas (microtomo) o ultrafinas (ultramicrotomo) que permitan el paso de luz o electrones en el microscopio. El tejido congelado puede ser cortado directamente con la ayuda de un criostato, mientras que –en ocasiones– tejido fijado químicamente y que no ha sido incluido en parafinas o resinas puede ser seccionado en fresco con la ayuda del vibratomo. Finalmente, es necesario realizar un proceso de tinción (4) que revelará aspectos anatómicos o moleculares para obtener imágenes contrastadas del tejido nervioso en el microscopio (5).



estructura del sistema nervioso está menos extendida respecto a la aplicación del microscopio de transmisión. Si bien una limitación posible del microscopio electrónico de transmisión sería su incapacidad para generar imágenes tridimensionales, ésta se ha visto superada con el desarrollo de la microscopia seriada. Actualmente, a través de un conjunto de imágenes obtenidas de cortes ultrafinos consecutivos, es posible reconstruir el volumen de los elementos ultraestructurales del sistema nervioso. Por ejemplo, esta metodología ha permitido un gran avance en la descripción morfológica de las sinapsis y ha revolucionado los estudios de plasticidad sináptica centrados en el análisis de las modificaciones estructurales de las sinapsis asociadas con la función normal y patológica del cerebro.

Técnicas inmunohistoquímicas

Paralelamente a la evolución de las técnicas de microscopía electrónica e histoquímicas para el estudio de los aspectos estructurales del sistema nervioso con microscopio óptico, se ha ido desarrollado otro conjunto de técnicas.

Estas técnicas, denominadas inmunohistoquímicas o inmunocitoquímicas, permiten detectar y cuantificar la presencia de moléculas específicas en células nerviosas particulares, provocando una reacción inmunitaria.

Se emplean anticuerpos dirigidos contra las moléculas de interés (p. ej., neurotransmisores, receptores, enzimas, etc.), que son producidos al purificar tales moléculas e inyectarlas en el torrente sanguíneo de un animal experimental. El organismo del animal hospedador generará anticuerpos específicos contra la molécula de interés y éstos son recogidos para ser aplicados sobre secciones histológicas. Durante el proceso de incubación del tejido, el anticuerpo –al localizar la molécula diana– forma un complejo antígeno-anticuerpo que posteriormente podrá ser revelado mediante diferentes técnicas, permitiendo reconocer la localización anatómica de tal molécula y estimar su nivel de expresión en el sistema nervioso. Una de las formas habituales para reconocer la presencia de moléculas particulares consiste en combinar los anticuerpos empleados con moléculas que emiten fluorescencia (fluorocromos o fluoróforos) al ser excitadas por radiación luminosa de determinada longitud de onda. Estos fluorocromos pueden ser excitados con lámparas específicas (mercurio o xenón) acopladas a microscopios ópticos o con láser en los denominados microscopios confocales. El uso del láser en el microscopio confocal permite hacer un barrido punto a punto por las muestras de tejido, obteniendo imágenes confocales que consisten en imágenes de espesor reducido del tejido sin elementos fuera de foco.

Como ejemplo, mediante estas técnicas se hace posible realizar mapeos funcionales del cerebro tras la estimulación neuronal que se produce normalmente durante la realización de tareas conductuales. Para ello, basta con disponer de

Recuadro 4-1. Métodos de tinción

- Método de Golgi.** Uno de los avances más importantes en el ámbito de la histología del sistema nervioso se produjo gracias al descubrimiento de la «*reazione nera*» («reacción negra») por Camilo Golgi (1843-1926). Esta técnica de tinción basada en el uso de sales de plata permitió conocer las características morfológicas de las células nerviosas, siendo posible diferenciar el cuerpo neuronal, las dendritas y el axón. Una gran ventaja de esta técnica radica en que solamente algunas células reaccionan (de forma aleatoria) ante la plata. De esta manera, se hace posible separar unidades celulares específicas y sus prolongaciones, que en condiciones normales aparecerían formando una masa densa prácticamente indiferenciada, dado su agrupamiento con las restantes células que forman el sistema nervioso (Fig. 4-4).

El desarrollo de esta técnica por parte de Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) determinó el nacimiento de la teoría o doctrina neuronal, enunciada por el propio Cajal en 1889, que sostuvo que el sistema nervioso estaba formado por células nerviosas dispuestas como unidades anatómica y funcionalmente independientes. A raíz de las evidencias mostradas por Cajal, los neurocientíficos de la época fueron alejándose de la teoría reticular, ampliamente defendida por Golgi, que planteaba que las neuronas estarían fusionadas en una red difusa o sincitio, que implicaba una continuidad citoplasmática entre las diferentes unidades neuronales. No obstante, la confirmación definitiva de la discontinuidad entre neuronas –propuesta por Cajal– tuvo que esperar hasta la década de 1950, cuando se pudieron tomar las primeras imágenes de las sinapsis gracias al desarrollo de la microscopía electrónica de transmisión. La relevancia de los descubrimientos de Cajal y Golgi sería finalmente reconocida con la concesión del premio Nobel compartido para ambos autores en el año 1906.

Por otro lado, el empleo de la misma técnica permitió al neurólogo alemán Korbinian Brodmann (1868-1918) sugerir la existencia de distintos patrones de estratificación de las células en las diferentes regiones de la corteza cerebral, describiendo hasta 52 patrones diferentes (o áreas de Brodmann). El denominado mapa de Brodmann ha ido evolucionando con el paso de los años y sigue constituyendo hoy una de las descripciones citoarquitectónicas de la corteza cerebral más completas y detalladas. Además, con ayuda de otras metodologías de reciente aparición, se ha podido verificar la relación entre la existencia de determinados patrones citoarquitectónicos corticales, como los establecidos por Brodmann, y el desempeño de diferentes funciones cognitivas.
- Coloración de Nissl.** Otro de los métodos de tinción que ha revolucionado los estudios histológicos del sistema nervioso es la coloración de los grumos de Nissl, denominada así en honor de su descubridor, el neuropatólogo alemán Franz Nissl (1860-1919). Empleando el azul de metileno, Nissl pudo diferenciar los cuerpos celulares al marcar en azul/púrpura ácidos nucleicos, básicamente ácido ribonucleico (ARN) presente en el retículo endoplásmico rugoso y los ribosomas. El resultado es una imagen de las neuronas con el núcleo claro, pero con el

núcleolo y el citoplasma marcados en tono azulado oscuro. A diferencia de la tinción de Golgi, específica para un reducido número de células, la tinción de Nissl penetra en todas las células de una sección, lo que permite, por ejemplo, conocer el número de neuronas que forman las distintas regiones cerebrales (Fig. 4-5). En la actualidad, las tinciones dirigidas a la diferenciación de cuerpos celulares son empleadas en numerosos estudios cuantitativos, siendo de especial interés aquellos dirigidos al análisis de condiciones que provocan muerte o pérdida neuronal. Para realizar estimaciones de este tipo se hace necesario, además, aplicar diferentes métodos matemáticos, como los de la estereología, que permiten extraer información cuantitativa de objetos tridimensionales a través del análisis de secciones bidimensionales del propio objeto.

- Técnicas de mielina y trazado de conexiones.** Para obtener información adicional sobre la conectividad neuronal o procesos neurodegenerativos, es posible combinar la información obtenida de tinciones que resaltan los cuerpos neuronales con el análisis de secciones teñidas con colorantes que marcan selectivamente las prolongaciones nerviosas (p. ej., las técnicas *Weigert-Pal* y *Luxol Fast Blue*). Generalmente estas técnicas se denominan tinciones de mielina, al teñir el recubrimiento graso de los axones. Asimismo, para conocer de dónde parten las conexiones que llegan a una región cerebral o hasta qué áreas cerebrales se envían axones desde una región concreta, se emplean técnicas de trazado axónico o de conexiones. Para ello, se emplean moléculas como la peroxidasa del rábano que se comportan como trazadores químicos. Por ejemplo, la inyección de peroxidasa del rábano en una región cerebral de un animal anestesiado produce la absorción de dicha sustancia por las neuronas de dicha región y su transporte retrógrado por el axón, es decir, desde el lugar donde se encuentra el terminal axónico hacia el soma celular. De forma similar, existen otras sustancias químicas, denominadas trazadores anterógrados, capaces de recorrer el camino inverso (desde el soma hacia el axón). La combinación de estas metodologías junto con otros métodos de detección de proteínas cerebrales ha permitido establecer mapas de conectividad entre distintas zonas del cerebro y caracterizar la naturaleza química de las sinapsis empleadas en dichas vías de comunicación. No obstante, dado que estos métodos implican inyecciones intracerebrales en sujetos anestesiados, son aplicados principalmente en modelos animales.

Actualmente, los estudios de trazado de conexiones en el cerebro humano se están beneficiando enormemente de los avances en resonancia magnética y de la obtención de imágenes por tensor de difusión (*diffusion tensor imaging*, DTI) que permiten establecer una tractografía detallada del cerebro de forma no invasiva (v. Imágenes por resonancia magnética, más adelante).

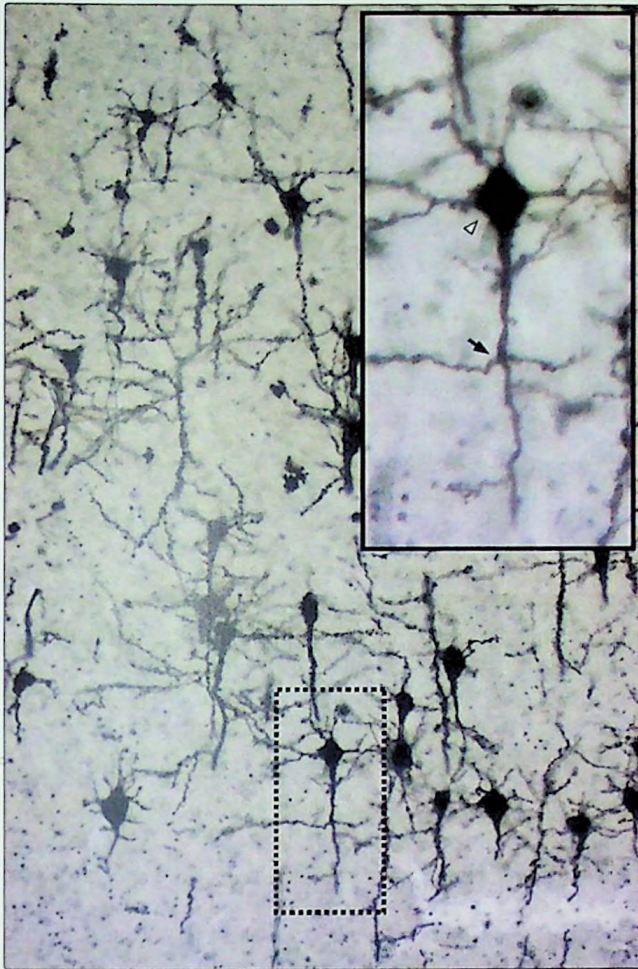


Figura 4-4. Tinción de Golgi. Sección de corteza cerebral con neuronas piramidales teñidas con la impregnación argéntica de Golgi. En el recuadro se puede observar a mayor aumento el soma o cuerpo neuronal (punta de flecha blanca) y las dendritas (flecha negra) de una neurona impregnada por la tinción.

anticuerpos dirigidos contra los productos proteicos derivados de la expresión de genes de respuesta temprana (p. ej., *c-fos*), que se verán activados en aquellas células que de forma específica han participado en el procesamiento de la información requerido por la tarea experimental. De forma similar, las técnicas inmunohistoquímicas pueden aplicarse para estudiar la formación y el desarrollo de contactos sinápticos esenciales en los procesos de plasticidad cerebral (v. Material web. Contenido complementario. Aplicación de las técnicas inmunohistoquímicas al estudio de la conectividad sináptica).

El microscopio confocal es una herramienta muy apreciada por su capacidad de construir imágenes tridimensionales a partir de secciones ópticas (imágenes confocales) conseguidas a diferentes profundidades de las muestras de tejido, marcando la presencia de una o varias moléculas simultáneamente.

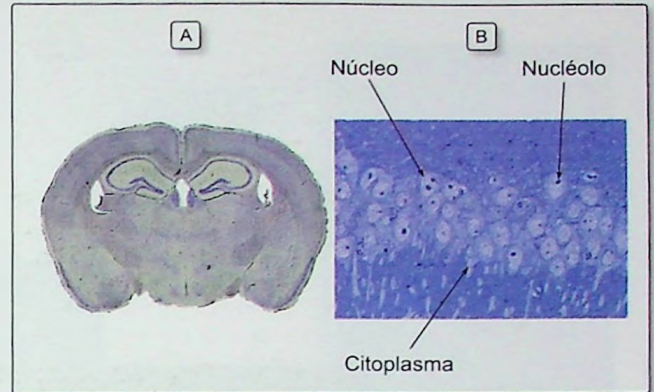


Figura 4-5. Tinción de Nissl. La tinción de Nissl resalta los cuerpos neuronales, permitiendo diferenciar las características citoarquitectónicas del cerebro. A) Sección coronal de ratón teñida con violeta de cresilo. B) Neuronas piramidales del campo CA1 del hipocampo a gran aumento teñidas con azul de metileno. Esta tinción permite delimitar los principales componentes anatómicos neuronales, como el núcleo, el nucléolo y el citoplasma.

Las técnicas de detección inmunohistoquímicas han permitido igualmente avanzar enormemente el conocimiento sobre la capacidad proliferativa de nuevas neuronas en el cerebro adulto. En estos estudios de neurogénesis adulta se emplean anticuerpos dirigidos contra marcadores moleculares que permiten el reconocimiento de las neuronas de nuevo nacimiento y sus cambios, fenotípicos y referentes a la localización anatómica, producidos durante su crecimiento y maduración hasta convertirse en neuronas adultas integradas funcionalmente en las redes neurales preexistentes. El método más común para la detección de neuronas de nuevo nacimiento consiste en el revelado inmunohistoquímico de la bromodesoxiuridina (BrdU). La BrdU es un análogo de la timidina que tiene la capacidad de ser incorporado por células en proceso de división durante la fase S de la mitosis. Una vez incorporada al ácido desoxirribonucleico (ADN) nuclear de las células en división, permanecerá igualmente en el núcleo de las células hijas. La BrdU generalmente es inyectada intraperitonealmente en animales experimentales que luego serán sacrificados para procesar el tejido nervioso y detectar inmunohistoquímicamente las neuronas que han incorporado la BrdU, es decir, para poder estimar el número de nuevas neuronas generadas desde el momento de la inyección de BrdU (Fig. 4-7). A pesar de que la mayoría de estas nuevas neuronas mueren antes de convertirse en neuronas adultas funcionales, condiciones de enriquecimiento ambiental, ejercicio físico o aprendizaje favorecen su proliferación y supervivencia y se ha podido establecer una relación entre la capacidad neurogénica del hipocampo en el cerebro adulto y la mejora de la función cognitiva del aprendizaje y la memoria.

Otra técnica ampliamente utilizada para la localización anatómica y cuantificación relativa de la expresión de genes es la hibridación *in situ*. En este caso se utilizan sondas de ARN o ADN creadas por el investigador, que se hibridarán (entrelazarán) con segmentos de ARN mensajero (ARNm) complementarios que llevan la instrucción para la síntesis de determinadas proteínas. Las sondas pueden ser marcadas con elementos radioactivos o con moléculas antigénicas y el conjunto sonda-

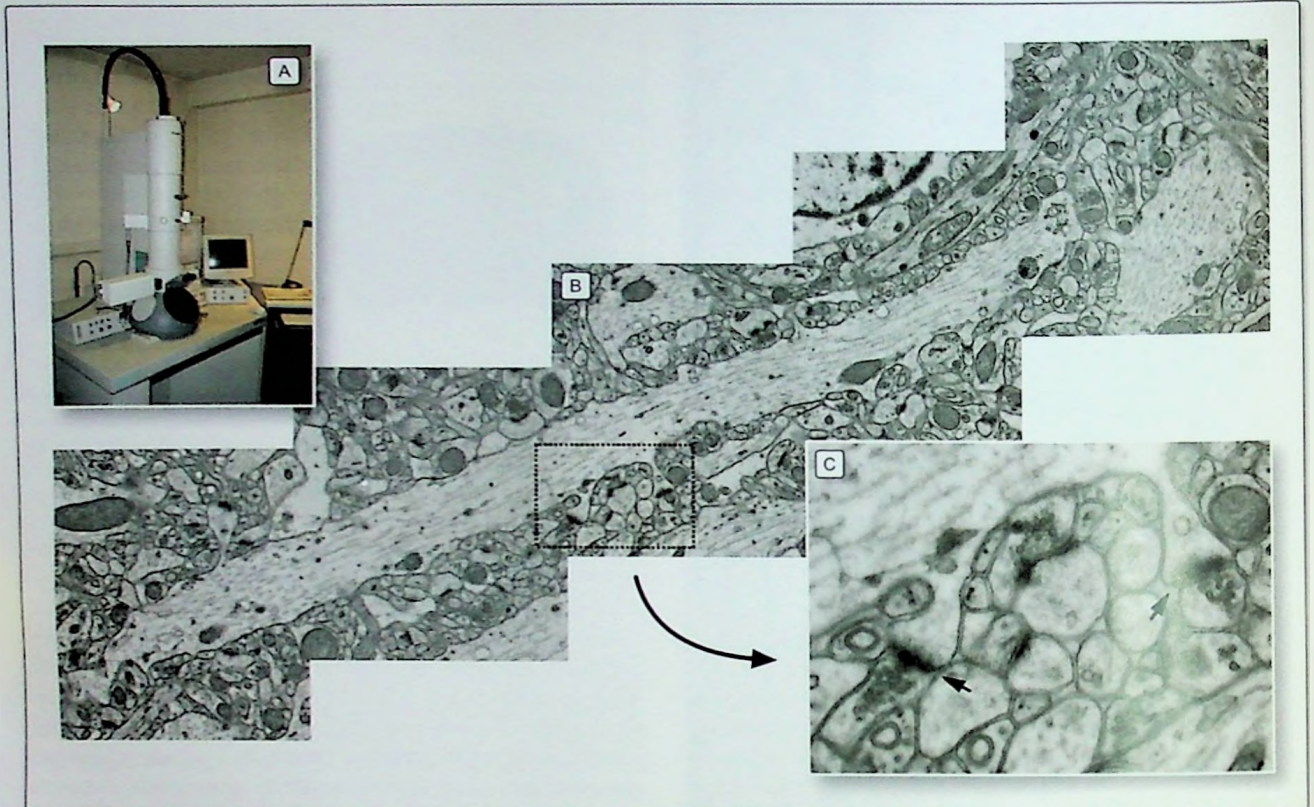


Figura 4-6. Aplicación del microscopio electrónico para el estudio estructural de sinapsis. A) Imagen de microscopio electrónico de transmisión. B) Composición realizada a partir de varias imágenes de alto aumento y resolución que reconstruyen un segmento dendrítico. C) Se muestran dos espinas dendríticas (flechas) que reciben contactos excitatorios desde terminales axónicas [sinapsis axo-espinosas].

ARNm se revela posteriormente mediante autorradiografía o análisis inmunohistoquímico, respectivamente. El revelado autorradiográfico se realiza cubriendo las muestras de tejido con películas o emulsiones fotográficas que son sensibles a la radiactividad emitida por la sonda. Este fenómeno es equivalente al

efecto de la luz en una película fotográfica convencional y permite obtener imágenes de los lugares donde se ha incorporado la molécula o isótopo radiactivos, indicando dónde se produce la síntesis de las proteínas de interés (v. Material web. Contenido complementario. Aplicación de la hibridación *in situ*).

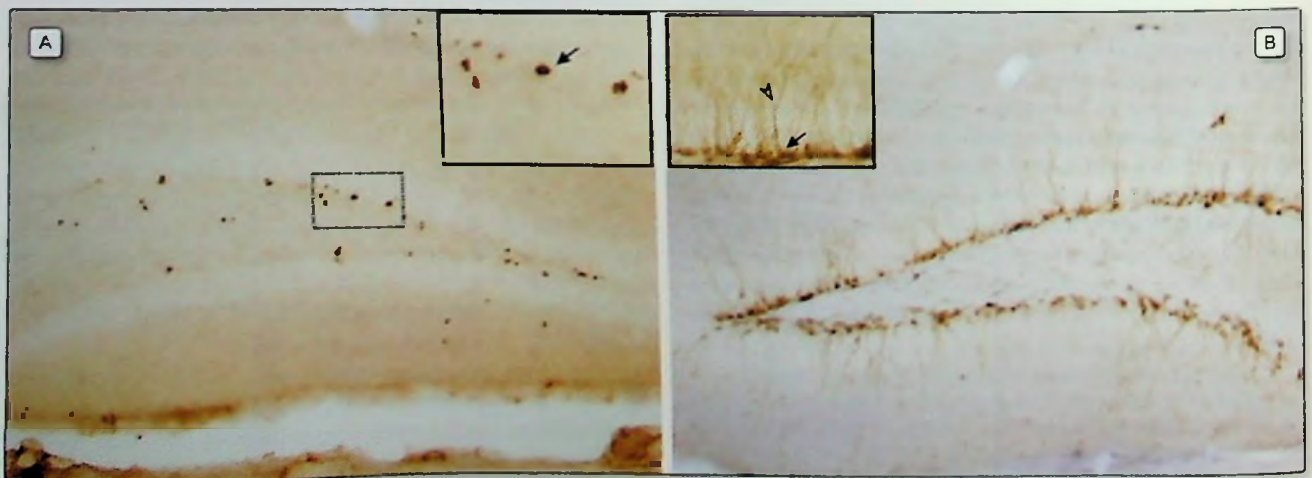


Figura 4-7. Estudio de neurogénesis adulta mediante las técnicas de detección inmunohistoquímicas. A) Sección de hipocampo de ratón adulto en la que se aprecian neuronas de nueva formación reveladas mediante inmunohistoquímica para bromodesoxiuridina (flecha negra). B) La inmunohistoquímica para doblecortina (DCX) permite observar neuronas inmaduras (flecha negra) y proyecciones dendríticas de nueva formación (punta de flecha hueca) en la circunvolución dentada del hipocampo de ratones adultos.

Técnicas de conteo: estereología

Uno de los aspectos que suele resultar clave en los análisis de los estudios histológicos consiste en la cuantificación de los diferentes elementos anatómicos o moleculares resaltados a través de las distintas técnicas o métodos de tinción.

Estos análisis cuantitativos y morfométricos pueden implicar desde estimaciones del número de neuronas, células gliales o sinapsis encontradas en una región cerebral hasta el cálculo del volumen de un núcleo cerebral o del tamaño de las propias células nerviosas, sus prolongaciones y sinapsis u otros elementos subcelulares.

Una de las herramientas más fiables para realización de todas estas estimaciones es la estereología, que se puede definir como un conjunto de métodos dirigidos a obtener información cuantitativa no sesgada de carácter geométrico-estadístico de un objeto de interés tridimensional, a partir de secciones bidimensionales del propio objeto. Los métodos de la estereología se han ido adaptando a las posibilidades de observación microscópica del sistema nervioso a través de microscopios ópticos y electrónicos. En función del tipo de microscopio empleado y del tipo de secciones estudiadas, es pues posible emplear métodos estereológicos específicos. Así, por ejemplo, en aquellos casos en que se emplean secciones relativamente gruesas y es posible realizar secciones ópticas de estas secciones, es decir, obtener varias imágenes a distintos niveles de profundidad dentro del grosor de una sección histológica, las técnicas del disector o fraccionador óptico permiten estimar el número de partículas (p. ej., neuronas) contenidas en un núcleo cerebral. Para ello basta con contabilizar un número reducido de partículas que caen dentro de una serie de marcos de referencia o disectores que se sitúan de forma aleatoria dentro de la región interés, ocupando un volumen conocido. Posteriormente, mediante la aplicación de fórmulas matemáticas específicas, se podrá, por ejemplo, obtener una estimación no sesgada –no influida por la forma o el tamaño de los objetos cuantificados ni por criterios subjetivos del investigador– del número total de neuronas contenidas en una región cerebral concreta (Fig. 4-8). Para las estimaciones de elementos observables únicamente a través del microscopio electrónico, como las sinapsis, es posible igualmente hacer uso de métodos estereológicos a pesar de no poder tomar imágenes en diferentes planos ópticos dentro de una sección. En estos casos el principio de cuantificación es similar, si bien los disectores comparados no son ópticos sino físicos, y el volumen de cuantificación se construye a través de diferentes secciones consecutivas de la región cerebral estudiada. Mediante este método, conocido como disector físico, se hace posible, por ejemplo, estimar el número total de sinapsis formadas en una región cerebral sin necesidad de contabilizar todas y cada una de ellas (Fig. 4-8). Esta información resulta muy útil para establecer mapas citoarquitectónicos del cerebro y para estudiar los efectos que diferentes factores – como aspectos del desarrollo, manipulaciones hormonales o cambios neuroquímicos por exposición a drogas o fármacos,

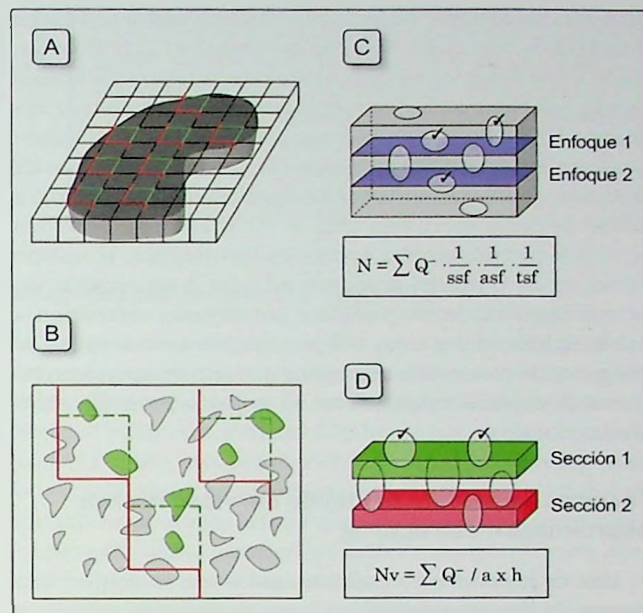


Figura 4-8. Cuantificación estereológica: disector óptico, físico y fraccionador. Las técnicas estereológicas permiten estimar de forma no sesgada el número total de neuronas de una región cerebral. **A)** Se realizan cortes seriados de la estructura cerebral y se superponen de forma sistemática una serie de ventanas de conteo o disectores sobre la superficie de las secciones. **B)** Las partículas que aparecen seccionadas dentro del espacio de conteo o disector serán contabilizadas, evitando aquellas que entran en contacto con las líneas prohibidas del disector (representadas en rojo). **C)** Cuando se trabaja sobre secciones con cierto grosor y microscopios que permiten tomar varios planos ópticos, se contabiliza el número de partículas que aparecen cortadas en el primer plano de enfoque y en el segundo plano de enfoque que forman el volumen del disector, despreciándose aquellas partículas que puedan aparecer cortadas en ambos planos del enfoque. El número total de neuronas (N) se obtiene multiplicando el total de neuronas contadas aplicando el disector óptico ($\sum Q^-$) por las recíprocas de las fracciones de sección (ssf), área (asf) y grosor (tsf) muestreadas [ssf: fracción de secciones muestreadas, proporción de secciones analizadas del total de secciones obtenidas al cortar de forma seriada toda la estructura; asf: fracción de área muestrada, proporción de área que es analizada en las secciones muestreadas; se calcula como la razón del área de la ventana de conteo y el producto de las distancias entre las posiciones del disector en los ejes x e y dentro del plano de una sección; tsf: fracción de grosor muestrado]. **D)** Alternativamente, al emplear secciones de escaso grosor y microscopios que no permite obtener diferentes planos ópticos dentro de una sección, se puede estimar la densidad neuronal mediante el disector físico. En este caso, se contabilizan las partículas que aparecen seccionadas en un plano y desaparecen en el siguiente. El número de neuronas por volumen se estima como la razón del número total de partículas contabilizadas y el producto del área muestrada por el grosor de las secciones.

lesiones y enfermedades– pueden tener sobre la organización cerebral.

Otra de las aplicaciones más importantes de la estereología consiste en el cálculo del tamaño o volumen de regiones cerebrales. Para estimar el volumen de un área cerebral se puede aplicar el llamado principio de Cavalieri, que permite obtener estimaciones no sesgadas a partir del área ocupada por la región de interés previamente seccionada

de forma sistemática, es decir, produciendo cortes separados a intervalos regulares. A partir de imágenes digitalizadas, y con un *software* específico, el área de la región de interés puede, por ejemplo, ser calculada a través del trazado de sus límites. Finalmente, para obtener la estimación de volumen por Cavalieri se multiplica la suma de las áreas obtenidas de la región de interés en todas las secciones por la distancia existente entre secciones (Fig. 4-9). Si bien este método se aplica comúnmente a secciones histológicas, el mismo principio de Cavalieri se puede adaptar a las técnicas de neuroimagen modernas y realizar, por ejemplo, estimaciones volumétricas de regiones del cerebro humano a partir de imágenes de resonancia magnética que se corresponden con cortes de cerebro virtuales con un grosor e intervalo entre ellos conocidos.

Técnicas de estudio del tejido nervioso *in vivo*: neuroimagen estructural

Una de las primeras ocasiones en las que se empleó una técnica de imagen cerebral en la era moderna se produjo a

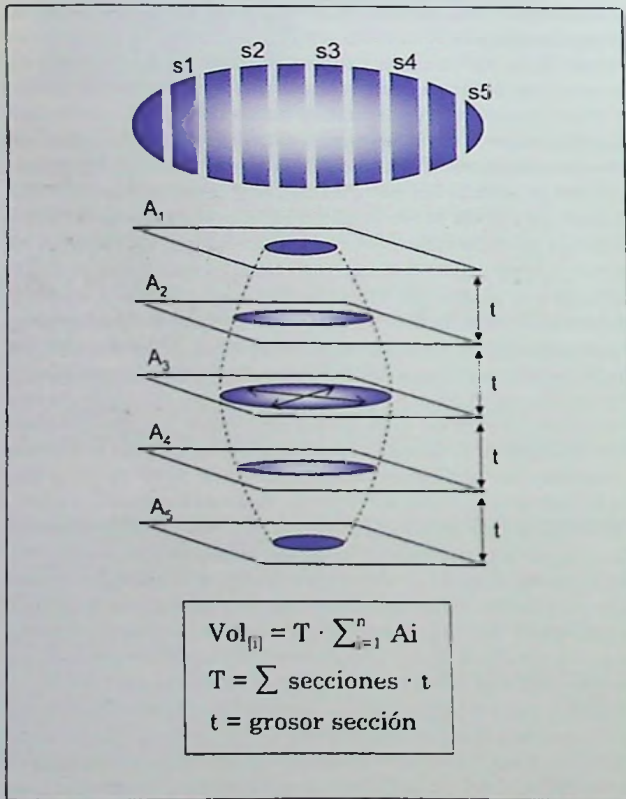


Figura 4-9. Estimación volumétrica de Cavalieri. El método estereológico de Cavalieri permite obtener la estimación del volumen de una estructura cerebral tridimensional [volumen de interés (Vol_[i])] a partir del área ocupada por la estructura [área de interés: A_i] en secciones bidimensionales [S1, S2, etc.] tomadas de cortes seriados de un grosor conocido [t] que son realizados sistemáticamente desde el inicio hasta el fin de la estructura. Estimando el área ocupada por la región cerebral en un número determinado de secciones se puede derivar el volumen como el producto de la distancia [T] entre secciones [incluyendo su grosor] y el sumatorio de las áreas estimadas.

principios del siglo XX de manera accidental. Así, la realización de radiografías a un individuo con laceración y fractura craneal con motivo del violento golpe de un tranvía mostró una gran dilatación de los ventrículos por la presencia intracraneal de un medio gaseoso.

➤ Pese al fallecimiento del paciente descrito por Luccett en 1913 a los 4 días de la intervención realizada para extraer el gas del encéfalo del paciente y aliviar la presión intracraneal, este caso supuso uno de los primeros registros neuromoencefalográficos descritos en la bibliografía.

El desarrollo posterior de la neuromoencefalografía consistió en la insuflación de aire en el espacio subaracnoideo mediante punción lumbar, produciendo desplazamiento del líquido cefalorraquídeo que, al ser menos denso, aumentaba la visibilidad de los espacios que en condiciones normales no podían visualizarse durante la exploración con rayos X.

Tomografía computarizada

El desarrollo de la técnica de los rayos X (radiaciones electromagnéticas) permitió mejorar de forma importante la visualización de la anatomía cerebral de seres humanos *in vivo*.

i La técnica denominada tomografía computarizada [TC] consiste en una sofisticación de los rayos X convencionales y permite visualizar cortes o secciones del cerebro tanto en individuos sanos como en aquellos que presentan algún trastorno cerebral.

Sin embargo, la técnica mejora sustancialmente las características de las técnicas previamente mencionadas. Al respecto, la resolución espacial aumenta por la mejora del bajo contraste observable entre las distintas zonas del cerebro, y reduce el riesgo para la salud asociado a la neuromoencefalografía. Los inventores de la TC, Godefrey Hounsfield y Alan Cormack, recibieron el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1979 por su trabajo y por la revolución que en medicina produjo su trabajo. Del mismo modo, la técnica también tuvo gran impacto en otras disciplinas científicas de la neurociencia. En particular, la TC permitió mejorar la capacidad de los neuropsicólogos para establecer relaciones entre la localización de las lesiones cerebrales de los pacientes y sus déficits cognitivos, a través de la observación de imágenes detalladas de la anatomía cerebral por un procedimiento prácticamente inocuo.

En general, la técnica de los rayos X consiste en la emisión de radiaciones electromagnéticas de la misma naturaleza que las ondas de radio o las microondas hacia una zona del organismo, con el fin de impresionar una placa fotográfica situada detrás de la región irradiada. En función de la densidad de los distintos tejidos del cuerpo, la tasa de absorción de dichos rayos variará y, con ella, también la imagen impresionada. La persona que va a ser explorada mediante TC yace sobre su espalda con la cabeza situada dentro de un gran cilindro que

contiene la fuente de rayos X en un lado y el detector en otro lado. El aspecto diferencial clave de la TC consiste en que el emisor y el receptor de rayos van rotando alrededor de la cabeza, obteniendo imágenes desde distintas perspectivas. Además, el emisor genera un único haz de rayos formando un plano. De esta forma, el haz de rayos llegará al receptor con mayor o menor intensidad según la densidad del tejido que traspase en cada uno de los cortes que realice. En función de la radiopacidad de las distintas estructuras en el interior del cráneo, las imágenes obtenidas variarán en torno a una escala de colores desde el blanco (hueso) al negro (líquido cefalorraquídeo). El cruce de la información desde las distintas perspectivas proporciona una imagen en dos dimensiones (2D) del plano explorado (p. ej., horizontal), permitiendo además la generación de distintos cortes a diferentes alturas (Fig. 4-10). Al final se puede obtener una serie de 8-9 imágenes del cerebro que, combinadas por ordenador, pueden ser empleadas para generar una imagen tridimensional (3D) del cerebro. Estas imágenes permiten distinguir entre la sustancia gris y la sustancia blanca y pueden verse los ventrículos y otras estructuras cerebrales con una resolución de varios milímetros. Pese al bajo coste de la técnica, presenta algunos inconvenientes, como la invasividad y la baja resolución espacial y temporal, respecto a técnicas más modernas como la resonancia magnética.



La manera en que la radiación afecta a la salud depende, entre otras variables, de la dosis de ésta. Mientras que la exposición a dosis bajas de rayos X no es perjudicial, se sabe que la exposición a cantidades masivas puede producir daños graves que comprenden desde quemaduras en la piel, caída del cabello, cáncer o, incluso, la muerte.

Imágenes por resonancia magnética

La resonancia magnética (RM) se ha establecido desde su origen como la técnica de imagen que ofrece mayor resolución morfológica y anatómica. Su resolución espacial puede ser inferior al milímetro y su resolución temporal, inferior al segundo. Por ello, está permitiendo investigar los vínculos entre las características morfológicas, la función de los tejidos, el metabolismo, el volumen sanguíneo y la hemodinámica tanto en personas sanas como en pacientes con algún tipo de alteración. Además, se ha demostrado que la técnica es inocua, ya que la inserción del paciente en un campo magnético convencional para estos equipos no parece suponer un riesgo para la salud (habitualmente no se emplean campos superiores a 3 teslas, o 3 T).

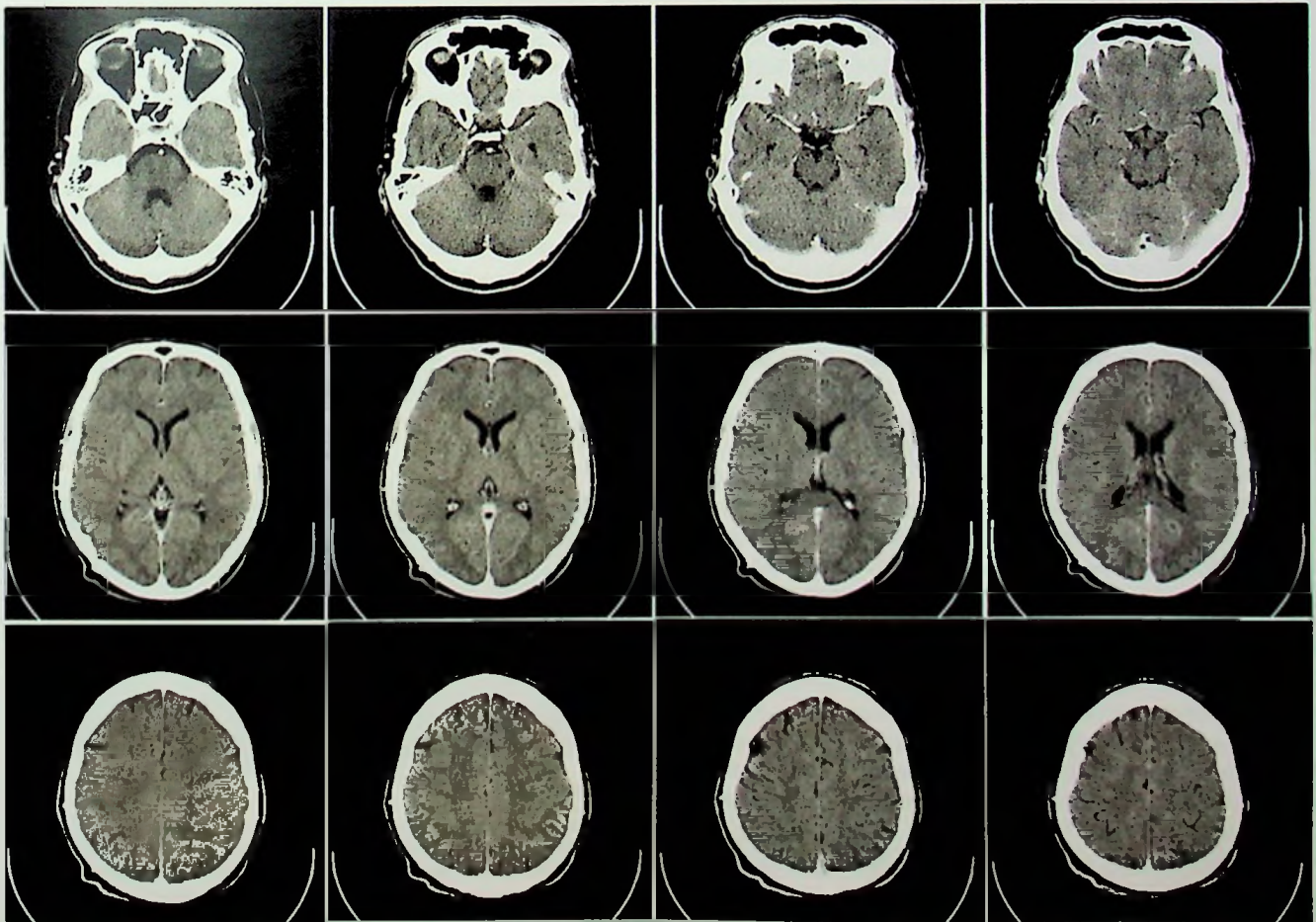


Figura 4-10. Serie de cortes obtenidos mediante tomografía computarizada de un cerebro humano empleando contraste intravenoso.



El tesla (T) es la unidad de medida de electromagnetismo dentro del sistema internacional de unidades (SI), denominada así en honor al físico y matemático austrohúngaro Nikola Tesla (1856-1943). 1 T equivale a 10.000 gauss (G) en el sistema cegesimal de unidades. Siendo el campo magnético de la Tierra de 0,3 a 0,7 G. El campo magnético empleado para resonancia magnética [1-3 T] es aproximadamente unas 30.000 a 80.000 veces superior al campo magnético de la Tierra, con el que se podría levantar un coche sin dificultad.

La explicación de los fundamentos técnicos de la RM excede los objetivos del presente capítulo. En todo caso es posible señalar algunas cuestiones básicas.



La RM se basa en el hecho físico de que un pequeño porcentaje de los protones de hidrógeno que componen el agua presente en el cuerpo humano son capaces de captar energía y alterar su orientación espacial cuando incide sobre ellos un pulso electromagnético de radiofrecuencia.

En RM se emplean estas ondas electromagnéticas para «bombardear» los tejidos a frecuencias de radio del orden de los megahercios. Estos protones hacen de antena emisora y receptora, de modo que la interrupción del pulso provoca la reorientación del núcleo con magnetismo, que pasa de un estado de alta energía a un estado de relajación o baja energía, «devolviendo» la energía que lo ha hecho desplazar. Esta devolución de energía puede ser captada desde el exterior mediante un sensor de campo magnético adecuado. El concepto de frecuencia de resonancia hace referencia a la frecuencia específica con la que cada núcleo con magnetismo resulta sensible. Los protones de los átomos de hidrógeno son los de interés en la RM (salvo en espectroscopia, como se verá más adelante). Una de las principales ventajas del estudio de este núcleo es el hecho de su elevada presencia en la mayor parte de los tejidos que conforman el sistema nervioso central (SNC) (Recuadro 4-2).

Contraste en resonancia magnética

Gracias a la RM es posible obtener, dentro de la misma sesión de registro, diferentes tipos de imagen que informan sobre las propiedades de los distintos tejidos observables en el sistema nervioso central. Cada una de estas imágenes muestra un contraste diferente (niveles de gris), lo que permite distinguir tejidos. El contraste está determinado por múltiples factores. De un modo sencillo, el contraste de la imagen dependerá del instante en el que se adquiera la imagen en cuestión, ya que los diferentes tejidos se comportan de manera distinta pues los protones del átomo de hidrógeno se relajan de forma diferencial en función del entorno fisicoquímico en el que se encuentren. En función del momento de adquisición de la imagen, se obtendrá una imagen de densidad protónica (con bajo contraste entre sustancia gris y blanca, que refleja la cantidad absoluta de protones de hidrógeno en un tejido), una imagen ponderada en T1 o una imagen ponderada en T2

Recuadro 4-2. Bases físicas de la resonancia magnética

El núcleo de los átomos de hidrógeno sólo tiene un único protón, que tiene una propiedad denominada *spin* y que lo hace comportar como un pequeño imán. Así, los protones de los átomos de hidrógeno giran sobre su propio eje, estando el eje de cada protón orientado al azar en el espacio. El equipo de RM utiliza un potente electroimán para alinear todos los ejes de los protones en el mismo sentido, para después someterlos a pulsos de radiofrecuencia. Al cesar el pulso, los protones de los átomos de hidrógeno que conforman los distintos tejidos cerebrales se reorientarán, devolviendo la señal que recibieron. La señal será captada mediante receptores electromagnéticos (antena) situados en la proximidad de la cabeza. La amplitud y la frecuencia de dicha señal son procesadas por un ordenador, con el fin de identificar la densidad de protones existentes en el medio del que forman parte. El posproceso de toda la información obtenida permite la reconstrucción de imágenes en 2 y 3 dimensiones del interior de la cabeza. La presencia de variaciones en la densidad de protones de hidrógeno en las distintas partes del cerebro (líquido cefalorraquídeo, sustancia gris y sustancia blanca) y en su recubrimiento óseo producirá una imagen en escala de grises en la que podrán distinguirse las diferentes regiones anatómicas del cerebro.

(Fig. 4-11). Las imágenes en T1 y T2 tienen un alto contraste, es decir, permiten distinguir con claridad las diferencias entre sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo. Las imágenes en T1 informan sobre la anatomía y permiten la detección de cambios morfológicos. Por otra parte, las imágenes en T2 aportan información sobre la fisiopatología, siendo muy útiles en la localización de lesiones en el SNC. En la figura 4-11 se puede observar el diferente comportamiento de los tejidos en los diferentes tipos de imagen.

Así, es posible medir el tamaño de determinadas estructuras del cerebro o del cerebro completo. Para ello, es preciso dibujar regiones de interés sobre las imágenes de RM obtenidas y calcular cuál es el área o el volumen (en este caso se lo denomina volumen de interés) contenido dentro de esa área dibujada. Se trata de un procedimiento que puede

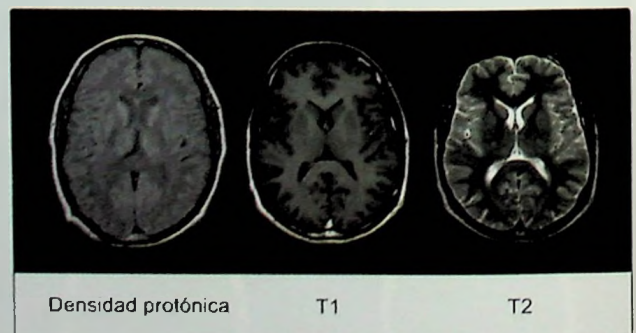


Figura 4-11. Imágenes de densidad protónica, potenciada en T1 y potenciada en T2. Las imágenes en T1 muestran gris la sustancia gris y blanca la sustancia blanca, siendo el líquido cefalorraquídeo negro. Las imágenes en T2 muestran la sustancia gris en blanco, la sustancia blanca en gris y el líquido cefalorraquídeo en blanco.

ser aplicado a diferentes modalidades de imagen obtenidas con RM, pero habitualmente se realiza sobre las imágenes potenciadas en T1 con adquisiciones de alta resolución espacial (Fig. 4-13). No obstante, es un procedimiento costoso en cuanto al tiempo, ya que implica que una o varias personas dibujen esas regiones de interés sobre las imágenes de RM y que posteriormente se realicen estudios de fiabilidad entre evaluadores.

➤ La RM es una técnica útil para identificar las lesiones de un paciente, ya que éstas generan variaciones en la señal proveniente de la relajación de los protones de hidrógeno en las regiones cerebrales sobre las que se sitúan y, por lo tanto, pueden ser observadas en las imágenes obtenidas. Éste es el caso de los tumores cerebrales, los accidentes cerebrovasculares o los traumatismos craneoencefálicos (Fig. 4-12).

📌 **Volumetría y análisis de regiones de interés.** La morfometría o volumetría tradicional tiene como objetivo estudiar las propiedades morfológicas de una estructura anatómica determinada, como el volumen, la longitud, etcétera.

En todo caso, este procedimiento es de enorme utilidad para la medición de diferentes estructuras, como el hipocampo, aunque no es sensible a pequeños cambios en el volumen de las estructuras, que pueden pasar desapercibidos para el investigador. En estos casos puede resultar de utilidad

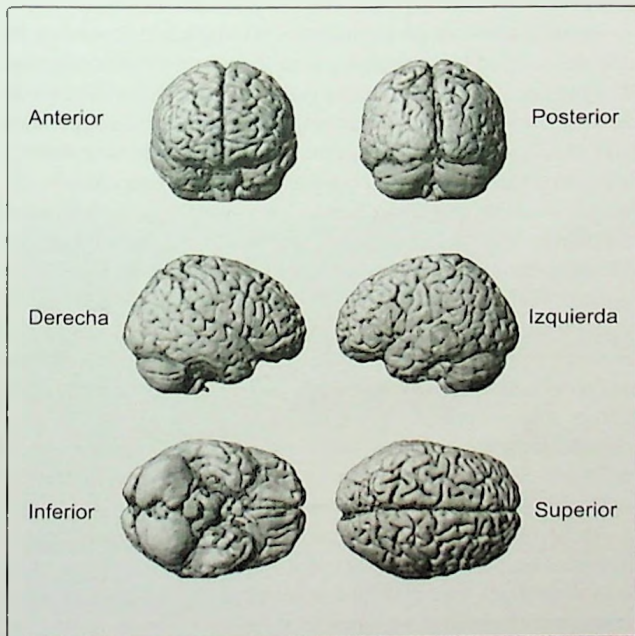


Figura 4-12. Imagen potenciada en T1 reconstruida en 3D. Se trata del cerebro estandarizado MNI (Montreal Neurological Institute), sobre el que la mayoría de los investigadores informan los resultados de sus trabajos científicos.

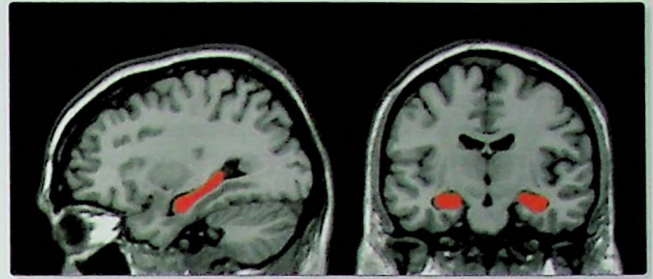


Figura 4-13. Volumetría. En las imágenes se han señalado en color rojo las regiones cuyo volumen va a ser medido (hipocampus).

el uso de procedimientos más automatizados, como la morfometría basada en vóxeles.

Morfometría basada en vóxeles. Existen numerosas evidencias de que el cerebro cambia su estructura y, en los últimos años, se ha mostrado que estos cambios son mucho más rápidos de lo que se pensaba. El desarrollo del individuo, el envejecimiento, el abuso de drogas, las enfermedades psiquiátricas, la presencia de entornos enriquecidos o pobres, el aprendizaje, etc. influyen rápidamente en el volumen cerebral.

📌 Mediante el uso de la morfometría basada en vóxeles es posible comparar la concentración de sustancia gris de una región del cerebro entre diferentes grupos de individuos o en el mismo individuo a lo largo del tiempo.

El procedimiento permite investigar las diferencias focales en la anatomía cerebral, incluyendo pequeñas diferencias entre individuos (Fig. 4-14). Para ello se necesitan imágenes de RM con alta resolución, para su segmentación (procedimiento por el que se separa la sustancia gris, la sustancia blanca y el líquido cefalorraquídeo) y su normalización (deformando la imagen del cerebro hasta situarla en un tamaño estándar utilizado por la mayoría de investigadores), lo que permite realizar análisis estadísticos para cada uno de los vóxeles que forman la imagen y estudiar grupos más o menos grandes de individuos. El procedimiento generalmente utilizado implica la comparación de un grupo de participantes con alguna característica de interés (enfermedad: demencia, esquizofrenia, trastorno de déficit de atención con hiperactividad, etc. o con algún tipo de habilidad específica: navegación espacial –taxista–, habilidad para hacer juegos malabares, etc.). Estos estudios han mostrado una diferencia entre el volumen de la sustancia gris en diferentes regiones del cerebro para diferentes grupos de participantes (taxistas, malabaristas, etc.). Incluso es posible emplear esta metodología para el estudio de asimetrías cerebrales.

Imágenes de difusión

Todas las moléculas manifiestan un movimiento térmico cuando su temperatura es mayor que el cero absoluto.

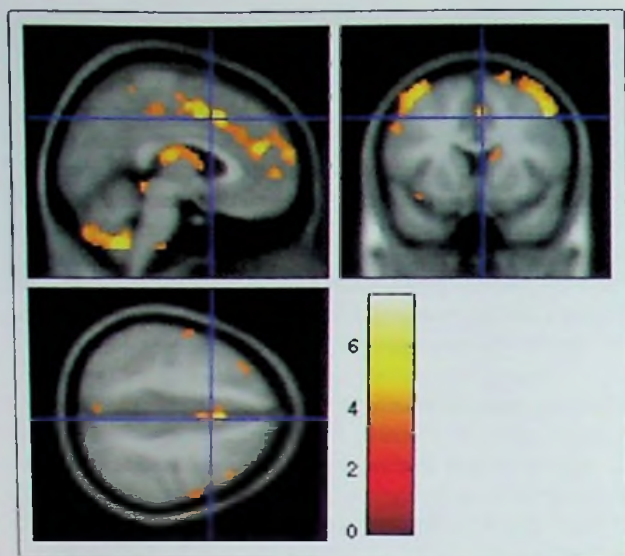


Figura 4-14. Morfometría basada en vóxeles. Las imágenes muestran las regiones en las que existe una diferencia en el volumen de la sustancia gris entre un grupo de pacientes con traumatismo craneoencefálico y un grupo de controles sanos.

Las imágenes de difusión por RM se basan en un movimiento browniano de las moléculas de agua en el espacio, de modo que, la intensidad de cada vóxel de la imagen está reflejando una medida de la tasa de difusión de las moléculas de agua en ese pequeño espacio.

Este movimiento de las moléculas es aleatorio cuando no se ve restringido por ninguna estructura, y es aproximadamente igual en todas las direcciones del espacio, por lo que se dice que el movimiento es isotrópico.

La RM aporta unas imágenes sensibles para medir la difusión del agua en el cerebro. De este modo, aquellas regiones del cerebro cuya difusión se ve disminuida por alguna razón se observan hiperintensas en la imagen de RM (Fig. 4-15). Algunas enfermedades muestran una restricción de la difusión, por ejemplo, las enfermedades desmielinizantes o en las que hay edema citotóxico. Así, las imágenes de difusión por RM constituyen un procedimiento bien establecido para detectar, por ejemplo, isquemia cerebral, esclerosis múltiple, etc. mediante la identificación de áreas hiperintensas en la imagen.

Tensor de difusión. Sin embargo, el movimiento browniano descrito no es igual en los tres ejes del espacio en aquellos lugares donde la difusión del agua se ve restringida por algún tipo de limitación estructural. Así, cuando el movimiento es mayor en una dirección que en otras, se dice que éste es anisotrópico. Esto es lo que ocurre en la sustancia blanca cerebral, en la que el movimiento se ve limitado en la dirección perpendicular al axón. Por el contrario, el movimiento de estas moléculas es mayor en la dirección paralela al axón. Esta propiedad puede ser utilizada para defi-



Figura 4-15. Imagen de difusión en la que se observa un infarto en fase aguda (hiperintenso).

nir la dirección de los axones contenidos dentro de cada vóxel de la imagen, que es en la que se basan las imágenes de DTI. Es, por lo tanto, una aplicación específica de las técnicas de difusión que permite estudiar la direccionalidad y la magnitud de la difusión del agua, y la visualización en vivo de la microestructura de los tejidos, aportando detalles sobre las características y la integridad de la sustancia blanca cerebral.

La realización de un estudio de DTI implica la obtención de diferentes imágenes sensibles al movimiento de las moléculas de agua en, al menos, seis direcciones predefinidas (la mayoría de los estudios actuales usan un número mayor, siendo habitual 15, 25, etc.). Así, mediante la obtención de este amplio número de imágenes y su procesamiento se pueden calcular diferentes índices que describen la microestructura de la sustancia blanca (Fig. 4-16). Algunos de los índices más frecuentes son el coeficiente de difusión aparente, que es una medida de la magnitud del movimiento molecular dividido por la difusividad total; la anisotropía fraccional, que es una medida relacionada con la direccionalidad de la difusión y con la forma del tensor de difusión en cada vóxel, la anisotropía relativa, que es una proporción entre las partes anisotrópica e isotrópica del tensor, y el *volume ratio*, que refleja la relación entre el volumen del elipsoide y el de una esfera cuyo radio es la difusividad media.

Para visualizar esta información de un modo sencillo, es habitual emplear mapas de color (Fig. 4-16) en los que cada uno de los tres ejes que describen la dirección de las vías es coloreado con rojo (izquierda-derecha), verde (anterior-posterior) y azul (superior-inferior). Las imágenes de tensor de difusión puede verse afectadas por diferentes enfermedades o trastornos. La desorganización o lesión de algunos tractos en el cerebro se verá reflejada en las medidas de ani-

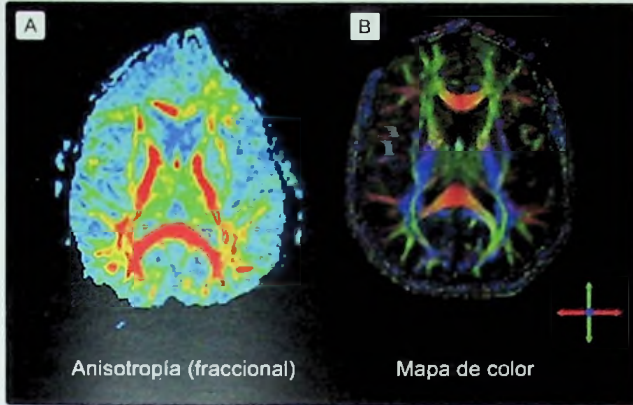


Figura 4-16. Imágenes de resonancia magnética por tensor de difusión (DTI). A) Mapa de anisotropía fraccional de un paciente con un traumatismo craneoencefálico frontal derecho. B) Mapa codificado en colores en un individuo sano, de modo que las fibras anteroposteriores quedan coloreadas en tonalidades verdes; las fibras de izquierda a derecha, en rojo, y las fibras ascendentes-descendentes, en azul.

sotropía, como han mostrado diferentes estudios en envejecimiento, traumatismo craneoencefálico, esclerosis múltiple, etcétera.

Recientemente, se ha desarrollado un procedimiento de análisis denominado imágenes por espectro de difusión (*diffusion spectrum imaging*, DSI), que permite un mayor nivel de análisis y detección de la dirección de las fibras, sobre todo en aquellos lugares donde las fibras se cruzan, algo que es complejo de analizar mediante técnicas convencionales de DTI.

También es posible aplicar a las imágenes de tensor de difusión los procedimientos de la morfometría basada en vóxeles ya descritos, que permiten caracterizar la existencia de cambios (o diferencias entre grupos) en la sustancia blanca cerebral. De este modo, es posible detectar qué conexiones del cerebro cambian a lo largo del tiempo en un grupo de pacien-

tes que han sufrido algún tipo de lesión cerebral, o estudiar qué áreas guardan algún tipo de relación con el rendimiento en pruebas neuropsicológicas (Fig. 4-17).

Tractografía. La tractografía es un tipo de imagen que se obtiene a partir de las imágenes de DTI. La información direccional de las imágenes puede ser utilizada para seguir la ruta de algunos de los tractos principales, lo que permite la visualización de las fibras de sustancia blanca cerebral en imágenes tridimensionales. Éstas, más allá de su belleza, resultan de gran utilidad en el contexto clínico. Por ejemplo, en el ámbito de la neurocirugía, indican al cirujano la localización específica de algunos tractos de interés, permitiendo una mejor planificación de la intervención (Fig. 4-18).

Espectroscopia por resonancia magnética

En espectroscopia por resonancia magnética (ERM) se pretende cuantificar la concentración de protones de algunos compuestos químicos que se encuentran diluidos en el medio acuoso de los tejidos, en el cual realizan funciones metabólicas específicas (de donde deriva su nombre: metabolitos).

Así, la ERM es una técnica que permite la medición incruenta de la concentración de determinados metabolitos en una región de interés seleccionada en el cerebro.

No se trata realmente de imagen anatómica, sino de metabolismo o fisiología cerebral, y su aplicación se beneficia del uso de altos campos magnéticos. Así, aporta información bioquímica de gran utilidad para el diagnóstico diferencial de diferentes enfermedades que afectan al SNC. Hoy es la única técnica que permite informar sobre el estado neuronal y glial del cerebro de un modo no invasivo y sin la necesidad de recurrir al uso de agentes externos.

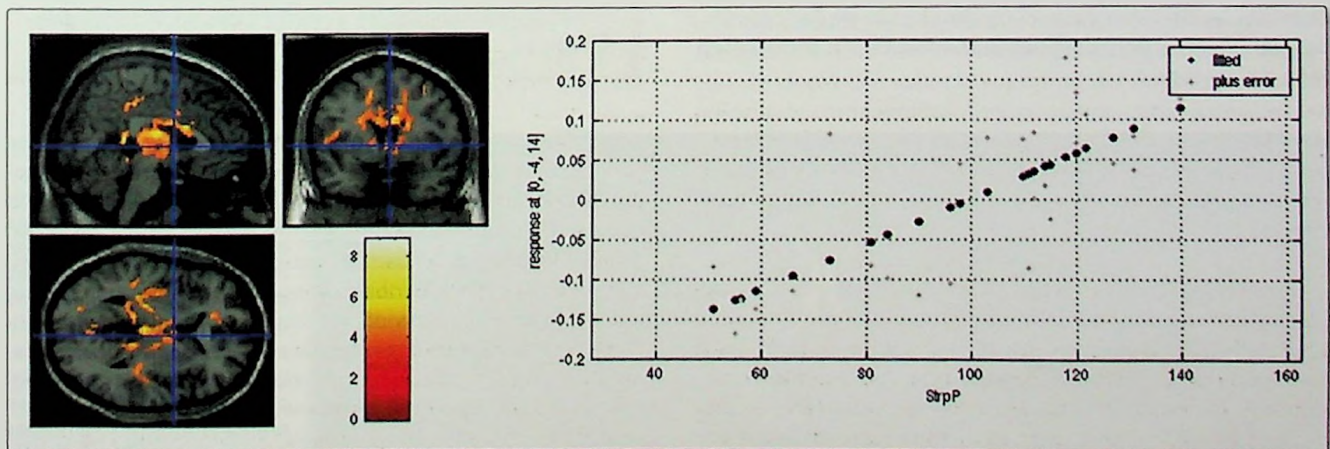


Figura 4-17. Se observan las áreas de la sustancia blanca cerebral que muestran una correlación con la velocidad lectora en un grupo de participantes sanos. Se trata de un análisis de correlación entre la anisotropía fraccional y el número de palabras leídas en un tiempo fijado. En la gráfica de la derecha se observa una relación directa en la cual a mayor velocidad lectora, mayor anisotropía.



Figura 4-18. Tractografía. Se muestra en tres secciones diferentes la reconstrucción mediante tractografía de distintas vías de interconexión cerebral o haces de sustancia blanca de un solo individuo.

El procedimiento exige la identificación y selección de una o varias regiones del cerebro de la que se van a obtener los datos. Dado que la concentración de los metabolitos de interés es varios órdenes de magnitud inferior a la del agua en la que se encuentran disueltos, es preciso eliminar la señal de esta última para que sean detectables las pequeñas concentraciones de los metabolitos. Éstas se mostrarán en un gráfico que reflejará la composición química de un tejido, de modo que la altura de cada pico indica la concentración o cuantificación de metabolitos en la región seleccionada (Fig. 4-19).

También es posible la obtención de índices o cocientes que ponen en relación las diferentes concentraciones de estos metabolitos. Por ejemplo, el cociente colina/creatina permite una cuantificación del grado de proliferación celular en tumores y el cociente mioinositol/creatina refleja alteraciones hipocampales. Incluso pueden ser útiles para el estudio de los procesos cognitivos, como el cociente NAA/colina, que es un buen marcador en el hipocampo para predecir el rendimiento de la memoria verbal.

REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CEREBRAL

Otro conjunto de procedimientos derivados del registro y la estimulación eléctrica en el cerebro ha ido evolucionando a lo largo de años para proporcionar información sobre la función del cerebro.

Recuadro 4-3. Metabolitos observados con mayor frecuencia

- N-Acetilaspártato (NAA): su papel exacto no se conoce, pero sólo se encuentra en el SNC, ya que se produce en la mitocondria de la neurona. Por ello, se lo considera un marcador neuronal que indica la densidad de neuronas y guarda relación con la capacidad de recuperación neuronal tras una lesión.
- Creatina: generalmente se utiliza como metabolito de referencia, ya que la longitud del pico que genera suele ser constante, y refleja el estado del sistema energético celular y su almacenamiento.
- Colina: es un precursor de la síntesis de acetilcolina y de la fosfatidilcolina de las membranas celulares. Por ello, se puede tomar como un marcador de un aumento del metabolismo de las membranas, por ejemplo, en procesos proliferativos (tumores cerebrales) o en procesos de degradación de membrana (como en las enfermedades desmielinizantes).
- Mioinositol: es un marcador específico glial.
- Lactato: es un marcador de metabolismo anaerobio, de modo que este pico no es detectable en el SNC sano, pero sí en condiciones patológicas, como la isquemia/hipoxia.
- Lípidos móviles: se toman como marcadores de necrosis, de gran utilidad en determinadas situaciones patológicas.

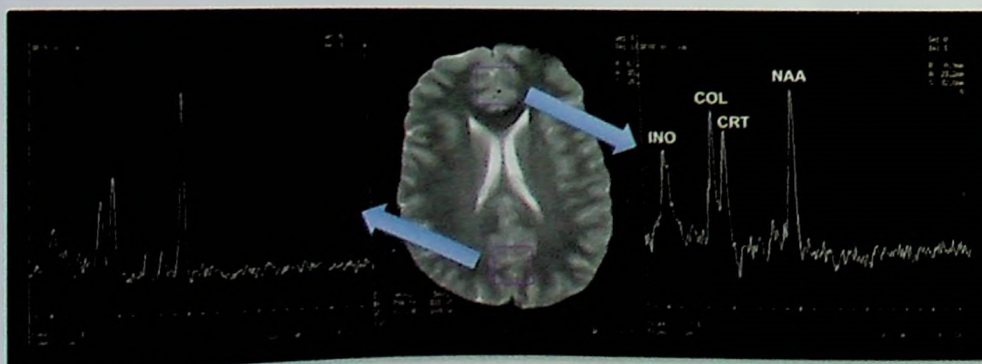


Figura 4-19. Espectroscopia. Se observan dos gráficos correspondientes a dos regiones diferentes seleccionadas en un paciente. Se observan diferentes concentraciones de metabolitos para cada una de ellas. Esta información permite al radiólogo establecer el diagnóstico apropiado para cada paciente. Las dos gráficas muestran diferencias de amplitud entre varios de los picos medidos en las dos regiones seleccionadas, como

en el caso del pico denominado mioinositol (INO), relacionado con la integridad de las células gliales. COL: colina; CRT: creatina; NAA: N-acetilaspártato.

Quizás uno de los primeros antecedentes del estudio neurofisiológico del cerebro procede de los experimentos de Luigi Galvani en el siglo XVIII. En ellos se proporcionaron las primeras pruebas sobre la relación entre la corriente eléctrica y la actividad del sistema nervioso.

En particular, la observación de la contracción de las ancas de rana colgadas de un cable en un mercado callejero durante la caída de rayos de una tormenta llevó a Galvani a establecer las bases de las técnicas de registro y estimulación eléctrica del sistema nervioso.

Registro de la actividad eléctrica de neuronas únicas y pequeños grupos

Buena parte del conocimiento actual sobre el funcionamiento del sistema nervioso se debe al desarrollo de métodos de registro invasivos de la actividad eléctrica de las neuronas. Estos métodos permiten el registro intracelular o extracelular de una unidad celular (mediante el registro de la actividad de la membrana y sus canales con técnicas como el *patch-clamp*), así como el registro extracelular de la actividad de grupos discretos de células.

El término *patch-clamp* se refiere a un conjunto de técnicas electrofisiológicas que permiten el estudio del comportamiento de canales iónicos individuales en células nerviosas mediante el pinzamiento de la membrana celular empleando micropipetas de vidrio.

En la situación de registro se insertan uno o varios microelectrodos en el tejido cerebral. En función del tipo de sensor empleado, la actividad registrada corresponderá bien a cambios en el potencial de membrana de una neurona individual, bien a los del potencial de un conjunto más amplio de neuronas que permanecen próximas entre sí.

El principal objetivo del registro de la actividad de las neuronas se centra en el estudio de las variaciones del potencial eléctrico generadas por las variaciones en la tasa de disparo de dichas células ante distintas manipulaciones experimentales.

Las neuronas de diferentes regiones cerebrales muestran patrones espontáneos de descarga, incluso en ausencia de estimulación, que pueden variar desde 1 a 100 descargas por segundo. El registro de la actividad de neuronas individuales trata de establecer diferencias de descarga respecto a dichos niveles basales. Por otro lado, el uso de microelectrodos con punta de mayor tamaño para el registro de unidades múltiples ofrece a los investigadores la posibilidad de estudiar el comportamiento de grupos celulares funcionalmente relacionados. Este tipo de experimentos puede ayudar a explicar la forma en que se produce la codificación neuronal en los procesos cognitivos. No obstante, y dado el alto grado de invasividad de la técnica, el empleo de esta metodología en seres humanos suele verse restringido al estudio de pacientes neurológicos quirúrgicos.

En animales experimentales, sin embargo, estas técnicas permiten observar *in vivo* la actividad neuronal durante la realización de diversas tareas con demandas cognitivas específicas. Por ejemplo, en el ámbito de estudio del aprendizaje y la memoria espacial, la investigación neurofisiológica dirigida a registrar la actividad de poblaciones neuronales del hipocampo ha dado como resultado el descubrimiento por parte de O'Keefe y Dostrovsky en 1971 de células que participan de forma específica en la codificación de lugares, permitiendo la elaboración de un mapa cognitivo o representación del espacio. Estas neuronas, denominadas «células de lugar», se descargan cuando los animales se sitúan en localizaciones precisas del espacio y permiten informar al sujeto de su posición. Asimismo, más recientemente (2000) se observó que estas células de lugar son algo más que indicadores espaciales y que pueden codificar información relacionada con aspectos episódicos. Por ejemplo, estas células llegan a codificar la información de dónde ha estado y hacia dónde se dirige un animal durante una prueba de alternancia de lugar en un laberinto en T modificado, información que se relaciona con la formación de memorias episódicas (v. Material web. Contenido complementario. Electrofisiología *in vivo* y células de lugar).

Por otro lado, uno de los ejemplos más ilustrativos de la aplicación de esta metodología al estudio de los procesos cognitivos superiores es el de los trabajos del español Joaquín Fuster con primates. En particular, este autor ha venido estableciendo la importancia de determinadas porciones de las cortezas prefrontales en el mantenimiento a corto plazo de información relevante para la tarea en curso (memoria de trabajo). En estas situaciones investigadas, los sujetos experimentales son entrenados para asociar la aparición de una señal con la obtención de una recompensa que se demora unos segundos. Los primates obtienen la recompensa en función de su capacidad para recordar la posición indicada por la señal tras el transcurso del período de demora. Según los resultados de estos trabajos, existen neuronas en las cortezas prefrontales dorsolaterales que permanecen activadas durante dichos intervalos de tiempo y cuya finalidad consistiría en mantener activa la información relativa a la localización de la señal que marca la recompensa.

Otra variante de la técnica de registro directo invasivo de la actividad eléctrica cerebral consiste en la aplicación de «mantas» de electrodos sobre la superficie del cerebro para la obtención de corticografías. Dichas mantas están formadas por una superficie de material flexible que incorpora una serie de electrodos (entre 20 y 60 electrodos) cuya distancia entre sí determinará el nivel de resolución espacial de las respuestas observadas. Las mantas se sitúan sobre la superficie del cerebro de los individuos (subduralmente), con el fin de registrar la actividad de la superficie cerebral. Una de las más claras ventajas de la técnica frente a las técnicas no invasivas análogas como el electroencefalograma (EEG) convencional es el mayor nivel de resolución espacial en la localización de la actividad eléctrica del cerebro (del orden de los milímetros). Una de las aplicaciones más directas de esta técnica se ha desarrollado en torno al ámbito de la cirugía de la epilepsia en seres humanos. En este contexto la técnica permite localizar con gran precisión la localización del foco epileptógeno que se ha de extirpar, y proporciona una descripción detallada de las áreas que

deben ser preservadas para la conservación de funciones básicas para el individuo. A menudo las mantas de electrodos, una vez colocadas, pueden permanecer implantadas en el cerebro del paciente durante los días anteriores a la cirugía de cara a monitorizar la actividad epileptógena de interés.

Electroencefalograma y potenciales evocados



El electroencefalograma es una técnica de registro de la actividad eléctrica cerebral no invasiva que proporciona información neurofisiológica con una precisión de milisegundos y que, por lo tanto, ayuda a revelar dicha dinámica de la función cortical.



Como punto de partida, la electricidad puede ser definida como el flujo de electrones desde un cuerpo que contiene más carga (más electrones) a otro con carga menor. El polo negativo tiene mayor carga eléctrica y el positivo es el que menos carga tiene. El voltaje refleja la diferencia de potencial eléctrico entre los dos polos. Por ello, la corriente eléctrica –que se mide en amperios (unidad de intensidad de corriente eléctrica)– puede definirse como el flujo de electrones que se establece entre el polo negativo y el positivo por unidad de tiempo.

Cuando una neurona es excitada, la permeabilidad de la membrana que la envuelve cambia, permitiendo la libre circulación de iones a su través (principalmente, el sodio). Transcurrido un periodo de tiempo corto, se restaura el equilibrio inicial. Este movimiento de iones da lugar a una corriente dentro de la cé-

lula, transmitida a los tejidos cercanos y denominada «corriente de volumen». Pueden distinguirse dos tipos de actividad neuronal: el potencial de acción (propagación del campo eléctrico a lo largo de las fibras nerviosas) y los potenciales postsinápticos.

El potencial de acción puede describirse como un cuadrípolo, cuyos campos eléctrico y magnético decaen más rápidamente que los del dipolo.



Un dipolo eléctrico es un sistema de dos cargas de signo opuesto e igual magnitud cercanas entre sí.

El potencial postsináptico se puede describir como un dipolo eléctrico que dura varias decenas de milisegundos. La suma de dicho flujo da por resultado potenciales de conducción de volumen que pueden ser registrados en el cuero cabelludo, como en el caso del EEG (Fig. 4-20). Cada uno de los canales de registro (líneas continuas) que muestra el EEG corresponderá a la diferencia de potencial registrada por cada electrodo en la región cerebral adyacente a él.

Una de las medidas derivadas del EEG más empleadas en neurociencia cognitiva para el estudio de las relaciones entre los cambios en la actividad eléctrica cerebral y el procesamiento cognitivo son los potenciales evocados relacionados con acontecimientos discretos (término en inglés *Event Related Potentials* o ERPs).



Los potenciales evocados cerebrales son fluctuaciones de voltaje visibles en el EEG e inducidas por los cambios de la actividad del cerebro, que están asociadas temporalmente a la ocurrencia de estímulos sensoriales, motores o sucesos cognitivos.

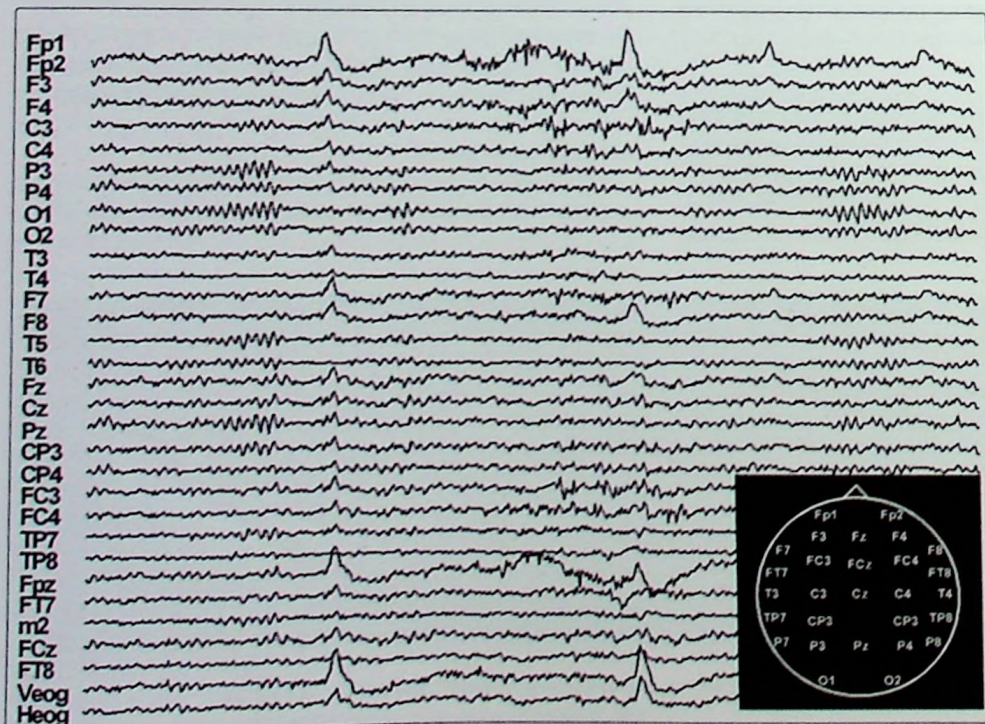


Figura 4-20. Electroencefalograma. Registro continuo de la actividad electroencefalográfica durante un periodo de 10 segundos de duración. A la derecha, abajo, se muestra una representación esquemática de la colocación de los 28 electrodos de registro empleados y posicionados sobre la superficie del cuero cabelludo de acuerdo con el sistema internacional 10-20.

Los potenciales evocados proporcionan una medida directa y no invasiva del curso temporal de la actividad cerebral, y consisten en una secuencia de fluctuaciones de voltaje positivas y negativas, denominadas componentes. Los componentes reflejan diferentes procesos sensoriales, motores y cognitivos que se clasifican en función de su distribución en el cuero cabelludo, su respuesta a las variables experimentales, su polaridad (positiva o negativa) y su latencia (Fig. 4-21 y Recuadro 4-4).

Existen componentes de los potenciales evocados exógenos o tempranos y endógenos o tardíos. Mientras los primeros responden principalmente a variables externas al individuo, como las características físicas de los estímulos (cuya latencia suele ser inferior a los 100 ms), los endógenos están más relacionados con variables psicológicas (con latencias superiores a los 100 ms).

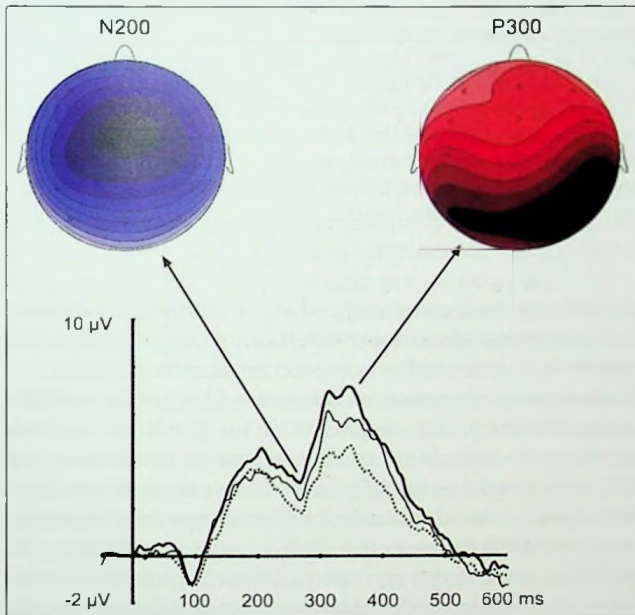


Figura 4-21. Potenciales evocados. En la parte inferior se muestra la representación en ejes de coordenadas de un potencial evocado visual ante un estímulo diana que debía ser respondido [electrodo Pz]. Cada línea del trazado representa un potencial evocado en condiciones experimentales diferentes (línea punteada: primera respuesta del individuo en la tarea; línea fina: segunda respuesta; línea gruesa: tercera respuesta consecutiva). Cada línea de la gráfica fue obtenida calculando el promedio de 30 respuestas individuales de cada individuo, en un grupo de 15 participantes. En la parte superior de la figura se muestran los topogramas obtenidos mediante 28 electrodos de registro durante dos momentos temporales diferentes (260 y 350 ms), coincidiendo con los componentes denominados N200 (con distribución frontocentral) y P300 (con distribución parietal). Como puede observarse, los picos o componentes de los potenciales N200 y P300 muestran diferencias de amplitud entre las tres condiciones experimentales comparadas. Una posible interpretación de los datos sería que la respuesta cerebral aumenta a medida que los participantes consolidan en su memoria la regla de respuesta.

Recuadro 4-4. Los potenciales evocados y sus componentes

Una onda o componente puede ser cuantitativamente caracterizada mediante tres dimensiones: amplitud, latencia y distribución en el cuero cabelludo. La amplitud proporciona un indicador de la extensión de la actividad neural y de cómo el componente responde funcionalmente a las variables experimentales. La latencia, o momento temporal en el que el pico de amplitud tiene lugar, aporta información sobre el curso temporal de dicha activación. La distribución por el cuero cabelludo proporciona información del gradiente de voltaje de un componente en un momento temporal concreto, y suele relacionarse con las estructuras anatómicas subyacentes. Pese a que existen dificultades a la hora de determinar qué regiones anatómicas específicas son responsables de un determinado componente, la distribución espacial de éste aporta información complementaria a la ofrecida por la amplitud y la latencia, permitiendo –por ejemplo– la realización de inferencias para determinar si dos estímulos generan patrones de actividad neural diferente y, por lo tanto, procesos funcionales distintos.

A continuación, se revisarán algunas de las principales fases de la medición de los potenciales evocados cerebrales, haciendo referencia a los conceptos de adquisición, amplificación, promediado, representación gráfica y análisis.

Adquisición

El proceso de adquisición de la señal constituye la primera fase del registro de la actividad eléctrica cerebral. Los electrodos son los captadores de dicha señal y deben estar compuestos de materiales conductores químicamente inactivos –como el oro, la plata, o el platino–, para evitar que alteren el registro. Los electrodos se aplicarán a la superficie del cuero cabelludo junto con el uso de un gel electrolítico (salino) y abrasivo que contribuye a reducir la resistencia de la piel producida por el estrato córneo. Otro de los aspectos que deben tenerse en cuenta es el posicionamiento de los electrodos a lo largo del cuero cabelludo. El *sistema internacional 10-20* proporciona una forma estandarizada de colocación de los electrodos. Dicho sistema recibe su nombre del hecho de que las posiciones básicas para la ubicación de los electrodos distan entre sí un 10 o un 20 % de la medida total del cráneo, considerada a partir de los ejes sagital (desde el nasion o hendidura superior del hueso nasal, al inion o punto de unión del cráneo con la espina dorsal) y coronal (desde un conducto auditivo al otro).

Amplificación

Dado que la actividad eléctrica cerebral es una de las señales fisiológicas más débiles, resulta imprescindible el uso de amplificadores diferenciales para su medición. En el caso de los potenciales evocados, los factores de amplificación más empleados aumentan la señal de entrada registrada por los electrodos entre 100.000 y 1.000.000 de veces. Además, el uso de amplificadores diferenciales ejercerá de filtro ante posibles fuentes no

relacionadas con la actividad que se desea medir. Ello se debe al principio de rechazo o cancelación de la señal común: la señal amplificada es la diferencia entre los dos valores de entrada; cuando a dos electrodos llega la misma señal (por estar a la misma distancia del foco de actividad neural), el amplificador registrará una actividad igual a cero. La ventaja de esta característica o principio de cancelación común es que permite eliminar algunas de las fuentes indeseadas de actividad, por ejemplo, artefactos procedentes del propio cuerpo o del exterior.

Promediado

El hecho de que la señal de los potenciales evocados sea muy pequeña (1-30 mV) en relación con la actividad electroencefalográfica de fondo (p. ej., 50 mV durante el registro de la actividad espontánea en vigilia) hace que para su observación también sea necesario el empleo de técnicas de promediado. La obtención exitosa de un componente es una función que depende de la razón entre la señal y el ruido medidos durante el registro. Esta función está determinada por la amplitud del componente en relación con la amplitud de la actividad EEG de fondo, el número de ensayos que hayan sido promediados para la obtención de una onda, y la cantidad de artefactos (o ruido eléctrico) contenida en el registro original. En general, con una media de 15-30 ensayos se podrá obtener una buena razón entre la señal y el ruido registrados. La cantidad de ruido existente en un promedio disminuye en relación con la función $1/\sqrt{N}$, donde N es el número de ensayos o épocas incluidas en el promedio del potencial evocado.

Representación gráfica

La forma más habitual de representación de los potenciales evocados es mediante el uso de ejes de coordenadas voltaje-tiempo, en los que el potencial evocado aparece como una curva o sucesión de crestas y valles para cada uno de los electrodos de registro. Pese a no ser una fase imprescindible en el análisis cuantitativo de los resultados, resulta conveniente por la información cualitativa que ofrece en cuanto a la calidad de la señal registrada, por la posible necesidad del uso de otro tipo de filtros digitales e –incluso– por las tendencias generales sobre la validez de las hipótesis de trabajo. Existen otras formas de representación gráfica de los resultados, como los mapas topográficos (Fig. 4-22). Constituyen una forma de representación derivada de la amplitud y la latencia de los componentes, y pueden tomar dos formas fundamentales: mapas de rangos de voltaje y mapas de densidad de corriente. Los primeros reflejan la suma de actividad cortical y subcortical que ocurre en un momento temporal determinado en una localización espacial específica. Los mapas de densidad de corriente, por su parte, representan únicamente la actividad cortical de la superficie del cuero cabelludo mediante el uso de algoritmos de filtrado (filtros espaciales) que eliminan la conducción de volumen de la actividad subcortical.

Análisis

En última estancia, el análisis de los potenciales evocados implica de forma convencional la comparación de la amplitud

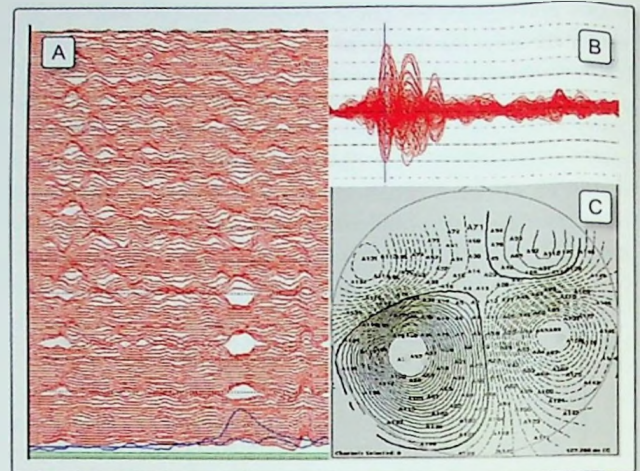


Figura 4-22. Magnetoencefalografía. **A)** Registro continuo de 1 segundo de duración que muestra la actividad magnética registrada ante un único evento sensorial auditivo. Cada línea representa la actividad registrada por cada uno de los sensores de campo magnético o *coils*. Los huecos blancos del trazado reflejan la actividad magnética evocada por un parpadeo [ruido] de mayor intensidad que la actividad cerebral [señal]. **B)** Representación en ejes de coordenadas (eje X: tiempo en milisegundos, eje Y: amplitud del campo magnético) de un potencial evocado magnético, colapsados todos los canales de registro en torno al eje X. **C)** Representación en la superficie de la cabeza de un campo magnético evocado por un estímulo auditivo a los 107 ms, correspondiendo con el instante marcado por la línea azul en B.

o la latencia de un componente dado en distintas condiciones experimentales (diseños de medidas repetidas), o la comparación de la misma condición experimental entre grupos de individuos con características diferentes (diseños de medidas independientes). Como ejemplo de un diseño de medidas repetidas que trate de establecer el momento temporal en que la atención visual ejerce su influencia en la secuencia del procesamiento de la información, podrían compararse los potenciales evocados visuales de un individuo cuando atienda a los estímulos presentados en la pantalla con los potenciales evocados visuales registrados ante esos mismos estímulos cuando deban ser ignorados por los participantes. Las diferencias entre las curvas obtenidas ante estímulos atendidos e ignorados comenzarían, según los estudios de atención, en torno a los 100 ms posteriores a la presentación de las imágenes, mostrando mayor amplitud los componentes de la condición atendida. Por otro lado, un ejemplo de diseño de medidas independientes que pretenda explorar las diferencias entre niños con trastorno por déficit de atención con hiperactividad y niños sanos podría tratar de comparar los potenciales evocados obtenidos en ambas muestras durante la presentación de estímulos atendidos.

Magnetoencefalografía

Toda corriente eléctrica genera un campo magnético perpendicular a ella y, por consiguiente, resulta posible medir dicho campo magnético fuera de la cabeza. En un estudio de magnetoencefalografía (MEG) se registran los débiles campos

magnéticos (del orden de femtoteslas o fT) originados por las corrientes eléctricas que se generan en el cerebro.

➤ Femtotesla [fT] es un submúltiplo de la unidad de electromagnetismo o tesla (T): $1 \text{ fT} = 10^{-15} \text{ T}$.

Estas corrientes y, por lo tanto, sus campos magnéticos asociados también tienen su origen en la actividad de las neuronas. La MEG registrará fundamentalmente los potenciales neuronales postsinápticos. La detección extracraneal de los campos magnéticos está también determinada por las características morfológicas neuronales y por su orientación con respecto a la superficie. Las capas II, IV y VI están pobladas por las denominadas células estrelladas, cuya disposición en estrella hace que no puedan generar un campo magnético significativo (disposición de campo cerrado). Por otra parte, las células piramidales, que constituyen un 70 % de la corteza cerebral, tienen una estructura lineal cuyas dendritas se disponen paralelamente entre sí y perpendicularmente a la superficie de la corteza. Por lo tanto, estas neuronas, al activarse, podrán generar un campo magnético identificable de acuerdo con un modelo dipolar. Además, debido a la disposición perpendicular del campo magnético con respecto a la corriente eléctrica a la que está asociado, la MEG es una técnica adecuada para medir la actividad de las neuronas situadas en las cisuras o surcos, las cuales suponen dos tercios de la superficie de la corteza. De todo esto se deriva que la MEG es preferentemente sensible a las corrientes tangenciales a la superficie de la corteza, generadas sobre todo por las neuronas piramidales de las capas III y IV. Sin embargo, una neurona activada no da lugar a un campo magnético susceptible de ser medido con MEG. Lo normal, no obstante, es que un área de varios milímetros cuadrados se excite de forma simultánea. Si se tiene en cuenta que aproximadamente 100.000 neuronas están presentes en un área de 1 mm^2 , aunque sólo la mitad de estas sean neuronas piramidales, ello supone que un número considerable de células están activadas al mismo tiempo. Se ha estimado que son necesarias al menos 30.000 neuronas activadas simultáneamente para que se puedan medir los campos magnéticos resultantes.

Los registros de MEG se realizan utilizando un neuromagnetómetro compuesto por un número variable de sensores de campo magnético (p. ej., 148 canales). Posteriormente, y al igual que en la técnica de los potenciales evocados, los campos magnéticos evocados de cada ensayo se promedian juntos, y posteriormente se procede a la eliminación de los posibles artefactos aparecidos en el registro. Los movimientos de ojos y los parpadeos son importantes fuentes biológicas de artefactos en el registro de MEG. Otras fuentes de artefactos pueden ser la actividad muscular de la cara y el cuello, así como la actividad cardíaca. Al igual que en el caso de los potenciales evocados, la medición de las señales de MEG asociadas a los procesos cognitivos de interés se realiza calculando un promedio de entre 50 y 200 respuestas cerebrales individuales (épocas) marcadas por la presentación de un mismo tipo de evento (p. ej., un estímulo que debe ser atendido), optimizando así la relación señal/ruido (Fig. 4-22). Obtenidos los promedios asociados a las distintas condiciones experimenta-

les de interés, el procedimiento de comparación estadística podrá realizarse mediante distintos procedimientos de análisis. Entre ellos, el más convencional implica, al igual que en el caso de los potenciales evocados, la comparación de la amplitud o la latencia de los componentes magnéticos observados entre las distintas condiciones experimentales. Aun así, existen otros procedimientos de análisis de los resultados que se describirán en el siguiente apartado (v. Material web. Contenido complementario. Registro simultáneo de magnetoencefalografía y electroencefalografía).

Métodos de análisis de las señales mediante electroencefalograma y magnetoencefalografía

Pese a que hasta el momento este capítulo se ha centrado en la descripción de la metodología de análisis del EEG y la MEG en el dominio del tiempo, como en el caso del análisis convencional de los potenciales evocados, el análisis espectral constituye otra fuente de información adicional sobre las señales electromagnéticas cerebrales y la relación de éstas con los procesos cognitivos. Dicho análisis espectral se basa en la idea de que cualquier actividad oscilatoria puede ser caracterizada como la suma de diferentes ondas sinusoidales que fluctúan a diferentes frecuencias y amplitudes. El objetivo del análisis espectral, generalmente basado en la utilización de la transformada rápida de Fourier, consiste en estimar la contribución de las distintas frecuencias a las señales del EEG o potenciales evocados registrados. Entre las aplicaciones clásicas del estudio de las bandas de frecuencia en el EEG, destaca la del estudio de las fases del sueño. Así, se sabe que cuando los individuos están en estado de alerta durante la vigilia o durante las fases del sueño paradójico en que se producen ensoñaciones (sueño REM, movimientos oculares rápidos) los patrones de actividad del EEG muestran actividad rápida cuya frecuencia se denomina ritmo beta. Por otra parte, los estados de relajación, especialmente cuando las personas permanecen con los ojos cerrados, muestran un patrón más lento en el EEG, con ondas denominadas ritmos alfa (con una frecuencia aproximada de 10 Hz). Por su parte, las ondas theta y delta (de 4-7 y 1-3 ciclos por segundo, respectivamente) son patrones característicos de las fases de sueño reparador o sueño profundo. De este modo, el análisis de la frecuencia del EEG proporciona una medida muy sensible a los estados de conciencia de los individuos y una importante herramienta clínica para el diagnóstico del estado cerebral en pacientes que han sufrido lesiones cerebrales.

Pese a la importante información ofrecida por el análisis espectral y la relación de los cambios en las frecuencias componentes del EEG o la MEG y diferentes estados de activación filológica y procesos cerebrales, dicho análisis no puede ofrecer información sobre el curso temporal de dichos cambios. Dado que los campos electromagnéticos del cerebro son fenómenos dinámicos y variantes en el tiempo, la perspectiva de análisis simultáneo en los dominios de tiempo y frecuencia parece altamente relevante. Desde esta perspectiva, las señales de EEG y MEG son concebidas como versiones transformadas escaladas de una función matemática particular (denominada *wavelet*), en vez de como un conjunto de frecuencias componentes de tipo Fourier (Fig. 4-23).

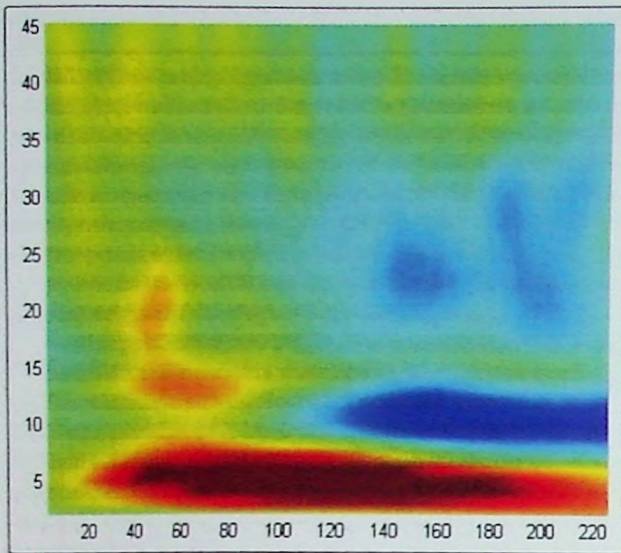


Figura 4-23. Análisis tiempo-frecuencia. Ejemplo de representación tiempo-frecuencia de la actividad eléctrica cerebral registrada en un electrodo particular (Fz). El eje X representa el dominio del tiempo [en milisegundos] y el eje Y, la escala de valores de frecuencia [en hercios]. La intensidad de la señal está representada por la escala de color de los puntos de la gráfica [en microvoltios].

El incremento del número de sensores de registro, en combinación con el uso de determinados algoritmos matemáticos, permite estimar la localización cerebral de las fuentes de campo electromagnético, como en el caso de las técnicas de localización de dipolos o las técnicas de tomografía de baja resolución. El modelo de dipolo de corriente equivalente constituye una de las técnicas de localización de actividad electromagnética cerebral más simples, y considera que los potenciales cerebrales registrados en la superficie del cuero cabelludo son generados por una sola fuente o un número limitado de ellas por unidad de tiempo. Un dipolo no refleja la presencia de una única fuente, sino una representación matemáticamente «conveniente» de la actividad sincrónica de un número amplio de células piramidales en regiones extensas de sustancia gris que pueden llegar a comprender alrededor de 100.000, orientadas en paralelo y activadas de forma simultánea. Un dipolo de corriente equivalente se caracteriza generalmente mediante tres parámetros de localización (X, Y, Z), dos parámetros de orientación del campo eléctrico, y un parámetro de intensidad de la señal (amplitud). El procedimiento de cálculo iterativo del dipolo de corriente equivalente conduce a la selección de la solución que mejor explique el potencial medido en la superficie del cráneo (Fig. 4-24).

Por su parte, la tomografía electromagnética de baja resolución (LORETA) consiste en un algoritmo para la localización de fuentes de actividad electromagnética en el cerebro a partir de las señales registradas en la superficie del cerebro, suponiendo que las neuronas vecinas se activan de forma sincrónica generando un campo eléctrico de orientación similar (aunque cambiante en el tiempo) y que la señal registrada en la superficie del cerebro tiene origen principal en la sustancia

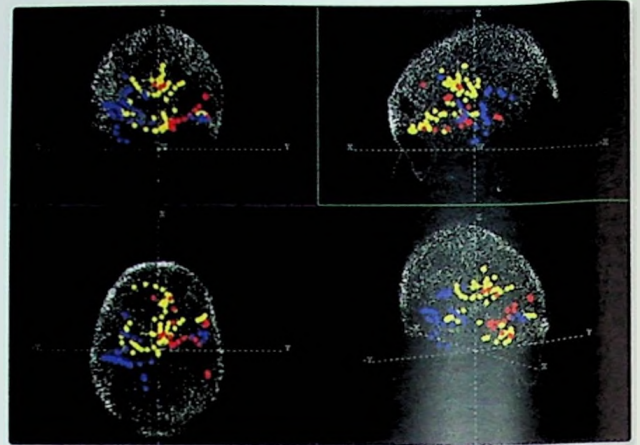


Figura 4-24. Análisis de dipolo de corriente equivalente sobre magnetoencefalografía. Digitalización de la superficie de la cabeza de un participante y el resultado de la aplicación del análisis de dipolos sobre el campo magnético evocado registrado, que revela las fuentes de actividad cerebral localizadas en el espacio del cráneo.

gris cerebral. La simplificación del problema de la localización de las fuentes de actividad eléctrica cerebral a partir de estos dos principios proporciona soluciones que en algunos casos se han mostrado similares a las de otras técnicas de neuroimagen funcional y cuya sensibilidad aumenta en función del aumento del número de sensores empleados durante el registro (Fig. 4-25).

■ REGISTRO DE LA ACTIVIDAD METABÓLICA Y HEMODINÁMICA DEL CEREBRO

Uno de los avances técnicos y metodológicos más importantes en neurociencia cognitiva ha venido de la mano de las técnicas de imagen funcional que permiten identificar *in vivo* los correlatos neuroanatómicos de los procesos cognitivos. A continuación se revisarán algunos de dichos aspectos técnicos y metodológicos de dos de las técnicas de imagen cerebral más importantes en la actualidad: la tomografía por emisión de positrones (PET) y la resonancia magnética funcional (RMf). Como se describirá, estas técnicas permiten detectar los cambios en el metabolismo o en el flujo sanguíneo del cerebro mientras los individuos realizan tareas de laboratorio.

Tomografía por emisión de positrones

Pese a que la señal obtenida mediante PET está relacionada con los cambios en el nivel de actividad metabólica del cerebro, se presupone que dichos cambios reflejan el sustrato biológico de los procesos cognitivos, en la medida en que buena parte de dicha actividad se modifica en relación con la actividad neuronal. Por lo tanto, la técnica aprovecha la necesidad de los tejidos de determinadas sustancias químicas como el oxígeno, el hidrógeno o la glucosa para establecer relaciones entre la actividad cognitiva y la actividad metabólica de distintas regiones del cerebro. Al marcar radiactivamente una de esas sustancias e inyectarla en sangre, se consigue

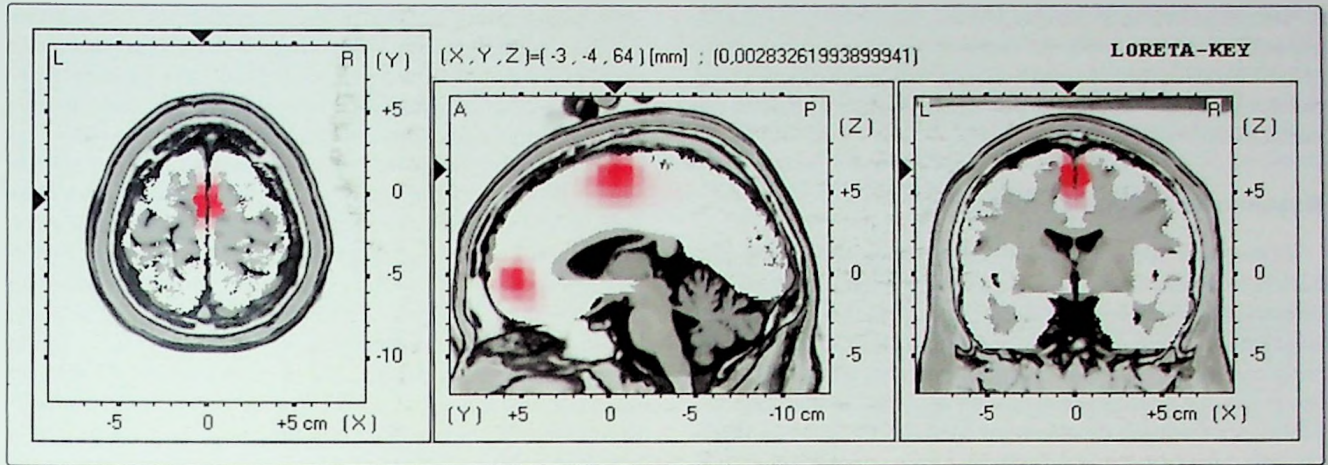


Figura 4-25. Análisis LORETA [tomografía electromagnética de baja resolución]. Resultado de localización de la actividad eléctrica cerebral registrada en torno a los 300 ms de la aparición de un estímulo visual mediante el algoritmo LORETA.

que la sustancia quede fijada al tejido que la consume. Una vez fijada al tejido que la ha absorbido y transcurrido un tiempo (variable para cada sustancia radiactiva), los átomos inestables del isótopo liberan positrones que se aniquilarán al contactar con los electrones de otros átomos circundantes. Dicho proceso de aniquilación generará en última instancia dos fotones que se desplazarán a la misma velocidad pero en sentido opuesto. El tomógrafo es un sistema de detección externo que, mediante detectores de fotones situados en forma de cilindro alrededor de la cabeza, será capaz de mapear el origen del proceso de aniquilación protón-electrón y, por lo tanto, estimar la localización del proceso metabólico de interés.

A lo largo de una sesión de registro PET típica, el trazador radiactivo suele ser inyectado por vía intravenosa en dos momentos diferentes (aunque en algunos casos también puede ser inhalado): durante la condición de control y durante la condición experimental. Algunos de los trazadores radiactivos más empleados son carbono-11 (^{11}C), nitrógeno-13 (^{13}N), oxígeno-15 (^{15}O), o flúor-18 (^{18}F). El isótopo entra al torrente sanguíneo y se distribuye por el cerebro, quedando fijado en aquellas regiones que demanden un mayor consumo de la sustancia (p. ej., las zonas de mayor activación). Así, esta técnica proporciona una medida en forma de imagen 3D de la tasa de un determinado proceso biológico en vivo. Mediante la combinación de los trazadores radiactivos adecuados, la técnica PET permite realizar estudios sobre flujo sanguíneo regional, transporte de sustancias a través de las membranas, mapeo de proyecciones axonales mediante difusión anterógrada y retrógrada, medidas de plasticidad neuronal, o estudios de la acción de determinadas sustancias químicas (drogas, fármacos) en los diferentes subsistemas del cerebro.

Un ejemplo del empleo del PET con finalidades cognitivas podría consistir en una situación experimental en la que se solicitara a los participantes leer palabras presentadas en una pantalla y otra en la que dichos participantes tuvieran simplemente que permanecer con los ojos abiertos. El análisis mediante PET en estas circunstancias podría consistir en

la sustracción de la radiación medida durante la condición de control de aquella medida durante la condición experimental. Las regiones implicadas en el procesamiento de las palabras escritas mostrarán mayores niveles de activación durante la condición experimental que durante la condición de control. El procedimiento de sustracción ignora las variaciones absolutas en el nivel de flujo sanguíneo entre las regiones cerebrales. De esta forma, la imagen obtenida con el procedimiento de sustracción mostrará los cambios de activación metabólica debida a la manipulación experimental (Fig. 4-26).

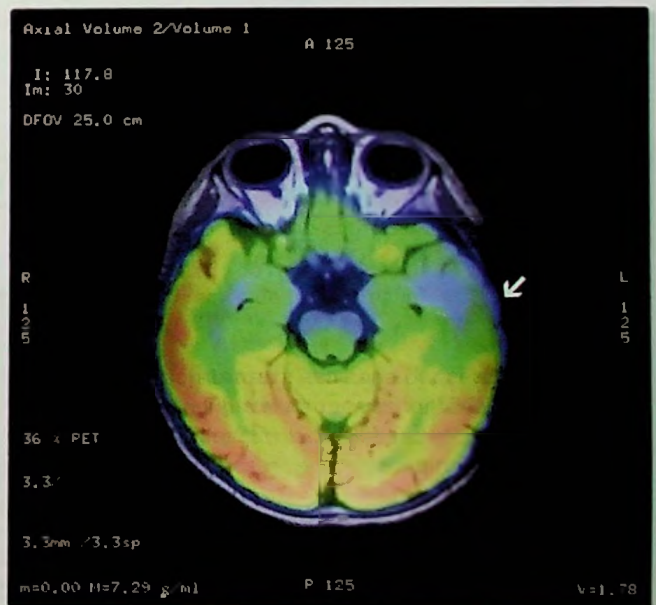


Figura 4-26. Tomografía por emisión de positrones (PET). Imagen obtenida mediante PET [imagen coloreada] sobreimpuesta a la imagen por resonancia magnética de un paciente con epilepsia. La imagen muestra un descenso del metabolismo en torno al lóbulo temporal del hemisferio izquierdo [flecha blanca] indicando una anomalía en dicha región.

Pese al gran interés de esta técnica debido a su resolución espacial (5-10 mm), dos de sus grandes inconvenientes en el estudio de la función cerebral son su baja resolución temporal y su alta invasividad por la utilización de sustancias radiactivas.

Resonancia magnética funcional

Si bien la mayoría de los autores emplean el término resonancia magnética funcional para referirse a la imagen obtenida mediante el contraste dependiente del nivel de oxígeno en la sangre (*blood oxygen level dependent*, BOLD), existen diferentes técnicas de RM que permiten obtener información sobre el funcionamiento cerebral. Por ejemplo, la investigación actual está tratando de encontrar medidas de RM más directas, más sensibles y que reflejen de forma cuantitativa la actividad de las neuronas. Algunos de estos campos de trabajo son la medición de los cambios en la perfusión inducidos por la actividad, el volumen de sangre, la difusión, la tasa metabólica cerebral para el oxígeno (TMCO₂), la temperatura o los cambios en el campo magnético cercanos a las neuronas activas. Pero al día de hoy ninguno de ellos se ha mostrado más útil en neurociencia cognitiva que el contraste BOLD. A continuación se describirán las principales características de dicho procedimiento, ilustrando en las dos secciones sucesivas de forma breve dos procedimientos alternativos y de gran interés en neurociencia cognitiva: los estudios de perfusión por RM y el etiquetado de espín arterial (*arterial spin labelling*, ASL).

Resonancia magnética funcional: BOLD

La introducción en 1996 de la imagen ecoplanar (*echo planar imaging*, EPI) permitió el desarrollo de la técnica de imagen funcional por resonancia de más extensión y aplicación en neurociencia cognitiva. El uso de la RMf (y de la técnica BOLD, que a continuación se describirá) ha aumentado en los últimos años dado su carácter no invasivo, su fácil implementación, su alta resolución espacial (milímetros), su adecuada resolución temporal (ligeramente por debajo del segundo) y, muy importante, la fiabilidad de la señal obtenida. La RMf ofrece resultados robustos y, en la mayoría de las oca-

siones, fácilmente reproducibles y congruentes. Los avances realizados en los últimos años acerca del mecanismo de la respuesta hemodinámica y la implementación de nuevos paradigmas, diseños y procedimientos de análisis están permitiendo el aumento e impacto de los resultados obtenidos.

Es un hecho bien conocido que cuando una determinada región del cerebro aumenta su nivel de actividad (como otros tejidos de un ser vivo), consume una mayor cantidad de energía (en este caso oxígeno-glucosa). Así, cuando una región cerebral se activa por encima de su nivel basal, se produce un aumento en el consumo de sangre oxigenada, que se compensa con un incremento en la perfusión sanguínea y en la oxigenación de esa región. La técnica se basa en el hecho de que la desoxihemoglobina en eritrocitos intactos es paramagnética (interactúa con el campo magnético), mientras que la oxihemoglobina es diamagnética (no genera alteraciones del campo magnético a su alrededor). Los cambios locales en el volumen de sangre debidos a una activación provocan una disminución de la susceptibilidad magnética y un aumento en el T2 y T2* local debido a la llegada de sangre oxigenada. Este aumento o disminución en la intensidad de la señal de las imágenes potenciadas en T2* se denomina BOLD.

! Cuando en los vasos sanguíneos se produce una disminución de la desoxihemoglobina a causa de un aumento en el metabolismo de las células nerviosas, se generará un incremento local de la homogeneidad del campo magnético y un aumento en la señal de RMf, que será posteriormente comparada con una serie de imágenes obtenidas en condición de reposo.

Por lo tanto, siempre será necesaria la comparación entre imágenes obtenidas en dos momentos diferentes: durante la realización de la tarea de interés (relacionada con el proceso cognitivo que se quiere estudiar) y una condición de reposo o línea de base. La sustracción de estas imágenes (mediante un tratamiento estadístico de los datos) permite la obtención de mapas de actividad cerebral asociados a la tarea que ha realizado el individuo (Fig. 4-27).

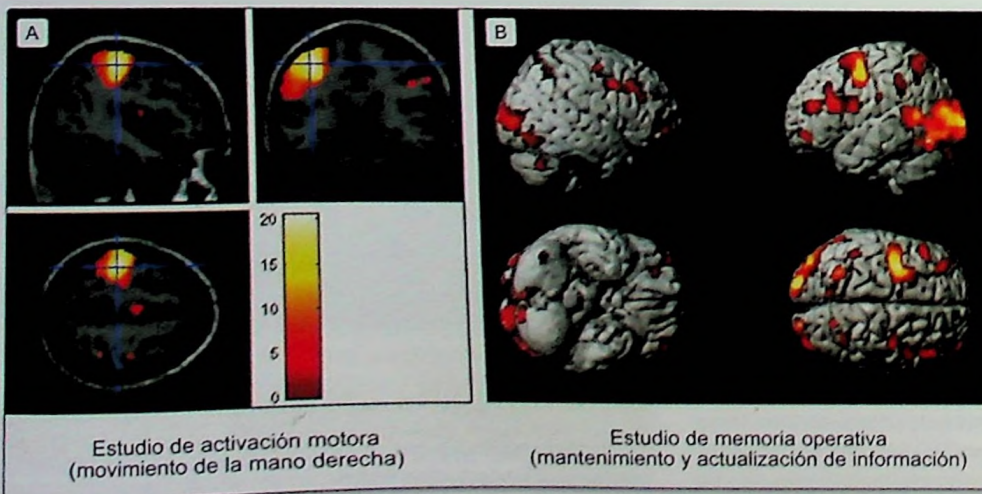


Figura 4-27. Activación RM funcional: técnica BOLD [contraste dependiente del nivel de oxígeno en la sangre]. A) Regiones de activación durante la realización de un estudio motor (movimiento de la mano derecha). Las imágenes se muestran sobre tres cortes: axial, coronal y sagital. B) Áreas de activación durante la realización de una tarea de memoria operativa. Este resultado se muestra sobre un cerebro reconstruido en 3D.

Existen dos procedimientos principales en el modo de presentar los estímulos y las tareas a los participantes en un estudio de RMf. Por un lado, los estudios más sencillos estructurados en «bloques» en los que se alternan períodos de «activación» (durante los que se realiza la tarea) y períodos de «reposo» o líneas de base. Ambas condiciones se alternan en períodos de unos 20-30 segundos, durante unos 5 minutos. Por otra parte están los «diseños ligados a eventos», en los que los estímulos se presentan de un modo análogo a como se hace en estudios de EEG o MEG. De esta forma, la obtención de imágenes por RMf no depende de señales procedentes de agentes exógenos al cerebro, sino de los cambios endógenos de éste. Dado que más del 70 % de la sangre cerebral se encuentra en los capilares y en pequeñas venas, las medidas BOLD reflejan predominantemente el estado de desoxigenación de la sangre venosa, si bien, al estar basada en la respuesta hemodinámica, es una medida indirecta de la actividad cerebral. Pese a ser robusta y congruente, se basa en la compleja interacción de la actividad neuronal, el metabolismo neuronal y el volumen sanguíneo, cuya relación no es completamente conocida.

Su aplicación en neurociencia cognitiva se concreta en que le permite responder preguntas sobre las áreas del cerebro que se encuentran activas en asociación con una tarea específica (que pone en marcha el proceso cognitivo objeto de estudio). Para la obtención de la información cuantitativa que permita estimar las diferencias estadísticamente significativas se emplean programas de análisis específicos que implementan los principios del análisis de varianza (v. Material web. Contenido complementario. Análisis de datos para resonancia magnética funcional). Aporta información acerca de las áreas que están relacionadas con el proceso de estudio, pero no permiten distinguir si estas regiones son necesarias y suficientes para realizar esa función. Su coste relativamente bajo (pese al elevado coste del equipo) y su carácter no invasivo permiten la realización de registros sucesivos en el mismo individuo en diferentes momentos o diferentes condiciones experimentales, sin afectar su bienestar físico. Esto es de gran utilidad para realizar estudios longitudinales en diferentes grupos de pacientes o individuos sanos y estudiar cambios en la actividad

Recuadro 4-5. Oscilaciones endógenas en resonancia magnética funcional

Los diferentes abordajes en el posproceso y en el análisis de los datos están en constante y rápido desarrollo. También en el contexto de la RMf tiene interés usar las fluctuaciones u oscilaciones de la señal para detectar la conectividad de las redes mediante los cambios en la señal BOLD provocados por la actividad espontánea del cerebro. Una vez obtenidas las imágenes de RMf, existen dos procedimientos muy extendidos para el análisis de la conectividad funcional: a) elegir un vóxel inicial (*seed voxel*) a partir del cual se estudiarán las correlaciones con otras áreas del cerebro, y b) emplear un abordaje sin modelo *a priori* como el análisis de componentes independientes aplicado a la RMf. Ambos enfoques están permitiendo la mejora del conocimiento acerca de cómo unas regiones del cerebro se comunican con otras para dar lugar a los procesos cognitivos complejos, lo cual es objeto de estudio de la neurociencia.

cerebral asociados a la evolución temporal (evolución de una enfermedad, desarrollo evolutivo en el niño o el anciano, procesos de rehabilitación o aprendizaje, respuestas a intervenciones farmacológicas, etc.). En la actualidad, muchos equipos disponibles permiten la visualización de la actividad cerebral en tiempo real durante la realización de la tarea, lo que es de gran utilidad en el contexto clínico (Recuadro 4-5).

Perfusión

Los estudios de perfusión analizan los cambios en la susceptibilidad magnética causados por el paso de un material de contraste inyectado en el sistema vascular cerebral, generalmente el gadolinio.

El paso del contraste por los vasos causa una disminución de la señal en T2. Así, es posible crear un gráfico de tiempo en el que se describe el paso del bolo de gadolinio, mediante algunos marcadores como el tiempo hasta que alcanza un máximo, el tiempo de tránsito medio, etc. (Fig. 4-28). Es posible, por lo tanto, hacer una cuantificación relativa del volumen sanguíneo cerebral mediante la comparación de éste en una región determinada con el obtenido en la sustancia blanca cerebral.

Las imágenes de perfusión ofrecen cierto nivel de contraste funcional. Generalmente ofrecen menos resolución temporal y menos contraste entre señal y ruido que el contraste BOLD. Sin embargo, tienen la ventaja de que su especificidad es mayor, proporcionan información sobre la línea de base y ofrecen mayor información cuantitativa. Un área potencial de desarrollo de esta técnica es su uso combinado con el contraste BOLD, lo que permitiría que los cambios de la perfusión provocados por la actividad cognitiva fuesen comparados con la señal BOLD, proporcionando una medida cuantitativa de los cambios en el TMCO_2 .

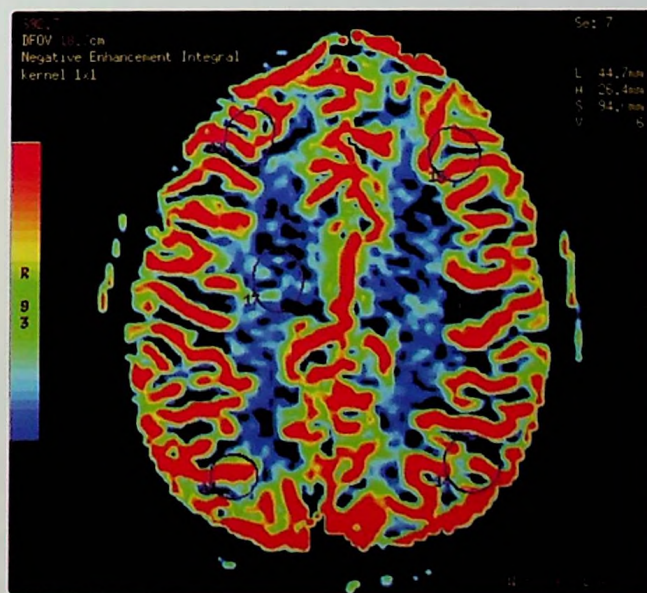


Figura 4-28. Imagen por resonancia magnética de perfusión.

Etiquetado de espin arterial

La técnica de etiquetado de espin arterial o ASL permite la medición del flujo sanguíneo cerebral en vivo, proporcionando mapas de perfusión, sin que sea necesaria la inyección de un agente de contraste externo.

Para ello utiliza un marcaje magnético de la sangre antes de su entrada en el cerebro (a la altura del cuello). Es decir, la sangre se marca magnéticamente como un trazador endógeno del volumen sanguíneo y se adquieren las imágenes. Éstas son comparadas con otras en las que no existe ese marcaje. El cálculo de la diferencia permite obtener estos mapas de perfusión (Fig. 4-29).

También es posible, mediante ASL, la realización de estudios de actividad cerebral de un modo similar al empleado en la técnica BOLD. El ASL proporciona una peor relación entre señal y ruido y puede ser menos sensible para la detección de pequeñas áreas de activación. No obstante, puede aportar medidas cuantitativas del volumen sanguíneo cerebral de calidad en regiones en las que otras técnicas obtienen peores resultados, como las cortezas orbitofrontales. Además, proporciona mejores resultados que otras técnicas en aquellos periodos de activación relativamente largos (a partir de 1-2 minutos), lo que puede ser interesante para estudiar cambios en la actividad neuronal que duran minutos, horas o incluso días.

ESTUDIO DEL FUNCIONAMIENTO CEREBRAL A TRAVÉS DE LAS LESIONES

La observación de las consecuencias conductuales de las lesiones cerebrales constituye una de las metodologías clásicas en neurociencia cognitiva en relación con el estudio de las

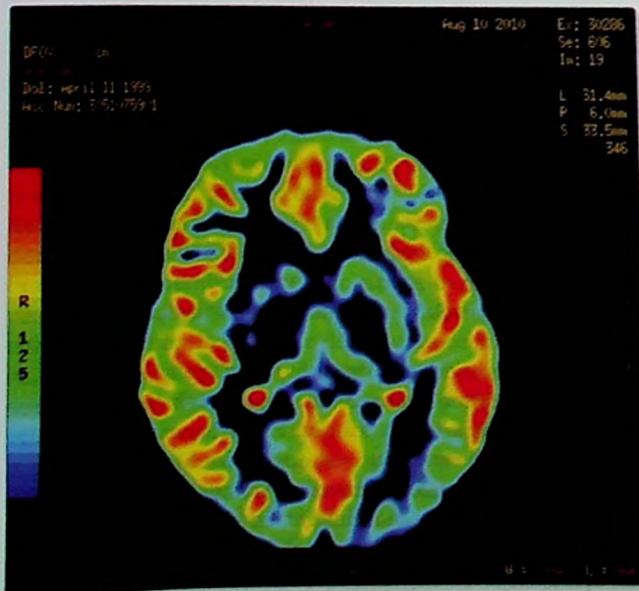


Figura 4-29. Etiqueta de espin arterial (arterial spin labelling, ASL).

funciones cerebrales. Este conjunto de métodos, con sus distintas variaciones, sigue siendo empleado al día de hoy para el estudio de la relación entre cerebro y conducta. En la actualidad, los estudios en los que se provocan lesiones experimentales se realizan por razones éticas evidentes en animales de laboratorio. No obstante, a lo largo de la historia, la ablación del tejido cerebral se realizó también de forma exploratoria para el tratamiento de pacientes con trastornos del comportamiento. A modo de ejemplo, cabría señalar que se han encontrado cráneos con más de 4.000 años de antigüedad, procedentes de la cultura egipcia, en los que se evidencia la práctica de la trepanación como posible técnica de tratamiento de males físicos y espirituales (Fig. 4-30).

La lógica subyacente al estudio de los efectos cognitivos de las lesiones cerebrales consiste en que la desaparición de una determinada estructura cerebral elimina la contribución de dicha región a la función que desempeñaba. De este modo, la observación de las consecuencias de lesiones naturales en seres humanos y de lesiones generadas experimentalmente en animales de laboratorio constituye una herramienta útil en el establecimiento de relaciones entre la anatomía y la función cerebral.

En esta dirección, neuropsicólogos como Donald T. Stuss del Instituto de Investigación Rotman en Toronto han señalado que mientras que las modernas técnicas de neuroimagen informan sobre la contribución o implicación de una determinada región cerebral en un proceso cognitivo determinado, el método lesional es el único con capacidad de informar sobre la «necesidad» de dicha región para el desempeño de una función dada.

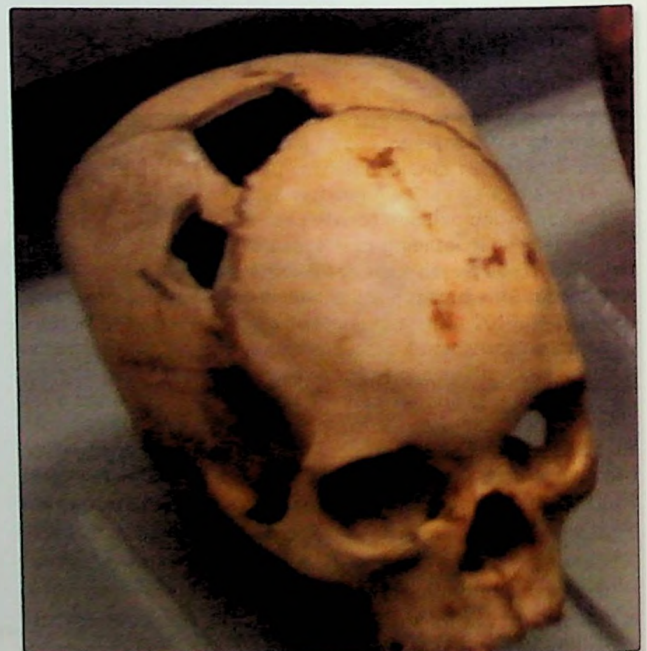


Figura 4-30. Restos de cráneo humano egipcio del Museo Británico de Londres que muestra signos de trepanación.

Clasificación y tipos de lesiones experimentales

Con respecto a la aplicación del método lesional en animales experimentales, se describirán a continuación algunos de los procedimientos más habituales. Estos procedimientos se engloban bajo el término cirugía estereotáxica, que implica la utilización de un aparato estereotáxico para fijar la posición de la cabeza de los animales y un atlas estereotáxico, con las coordenadas espaciales de todos los núcleos y áreas cerebrales conocidos. Estos mismos elementos son igualmente empleados en intervenciones quirúrgicas con pacientes humanos y tienen como objetivo dirigir con precisión una cánula o electrodo hacia una región predeterminada del cerebro. Las aplicaciones de la cirugía estereotáxica van más allá de la producción de lesiones cerebrales, siendo, por ejemplo, empleada para la disposición de electrodos para registros intracerebrales de actividad eléctrica (Fig. 4-31).

Las técnicas de lesión se pueden clasificar en mecánicas (aspiración e incisiones con bisturí para eliminar la conducción de una vía nerviosa), electrolíticas (destrucción de tejido nervioso por paso de corriente continua o alterna), de bloqueo criogénico (bloqueo de actividad neural reversible por enfriamiento), y químicas (por inyección de sustancias que alteran la estructura o función nerviosa de forma transitoria o permanente). Alternativamente, de acuerdo con la prolongación de los efectos de la lesión en el tiempo, las lesiones experimentales se pueden agrupar en reversibles o irreversibles. Además, de acuerdo con la especificidad en el tipo de tejido lesionado (p. ej., neuronas dopaminérgicas o fibras nerviosas), se habla de lesiones selectivas o no selectivas; en este último caso, se

trata de lesiones en las que no es posible asegurar la especificidad de la lesión, lo que generalmente se debe al uso de radiofrecuencia, aspiración o sección.

Los primeros estudios de lesión empleaban métodos de aspiración del tejido nervioso, de forma que una máquina de succión extraía las regiones de interés. También la aplicación de descargas eléctricas de alta intensidad sobre el tejido nervioso ha servido para la destrucción de porciones de dicho tejido. Pero sin duda, a pesar de la precisión espacial que permite la cirugía estereotáxica, uno de los principales inconvenientes técnicos de los métodos empleados en ella es la falta de especificidad en la selección del tejido que se ha de eliminar. Los nuevos métodos que han tratado de resolver esta cuestión tienden a emplear sustancias químicas que permiten la destrucción selectiva de tipos específicos de células o de partes de éstas. Por ejemplo, la inyección de sustancias como la MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), que genera lesiones específicas en las neuronas dopaminérgicas, se utiliza como modelo para el estudio de la enfermedad de Parkinson, al reproducirse patrones de lesión cerebral y alteraciones cognitivas similares a los presentados por quienes padecen esta enfermedad. Por otro lado, las manipulaciones farmacológicas también pueden ser empleadas para producir lesiones funcionales con efectos transitorios o reversibles. Al respecto, las técnicas de inactivación cerebral transitoria constituyen una extensión del método lesional que, en determinadas circunstancias, puede emplearse en seres humanos. Así, sustancias como los antagonistas de acetilcolina han sido empleadas para producir amnesias transitorias durante las cuales los sujetos experimentales no

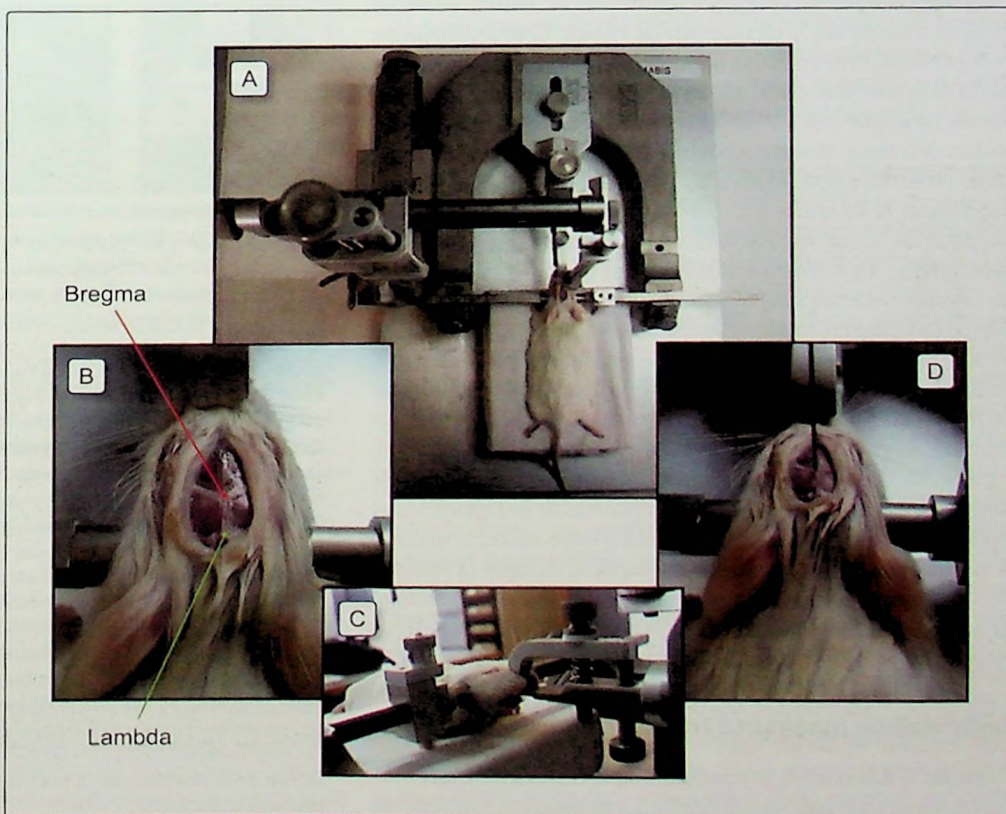


Figura 4-31. Cirugía estereotáxica en roedor. A) Colocación del animal de experimentación en aparato estereotáxico. B) Detalle de la posición de los puntos de orientación bregma y lambda en la parte anterior y posterior de la superficie craneal. C) Fijación de cabeza a través de incisivos y meatos auditivos. D) Posicionamiento vertical de un electrodo sobre bregma para tomar las coordenadas estereotáxicas de una región cerebral de interés.

recuerdan la información aprendida en los instantes durante los que la sustancia permanecía activa.

Para concluir este apartado sobre lesiones experimentales, se señalará que los recientes avances en investigación genética también han abierto la puerta al desarrollo de nuevas formulaciones del método lesional desde una perspectiva molecular. En particular, el conocimiento sobre los factores asociados a déficit cognitivo en diferentes enfermedades neurológicas, trastornos neurodegenerativos o formas heredadas de retraso mental ha experimentado un gran avance gracias al desarrollo de la genómica y la tecnología transgénica. Estas técnicas basadas en la manipulación genética permiten reproducir, en modelos animales, las lesiones del sistema nervioso y patrones de déficit cognitivo de los pacientes humanos. Las manipulaciones del ADN pueden consistir en la eliminación del algún gen (modelos *knock-out*) clave para el desarrollo de la estructura o de la función cerebral, o en la incorporación de genes patológicos humanos en el genoma de los animales experimentales (modelos transgénicos o *knock-in*). A partir de la aplicación de estas técnicas, hay modelos que aportan información muy valiosa sobre el papel de los genes y su interacción con factores ambientales en el desarrollo de enfermedades como la demencia tipo Alzheimer, la corea de Huntington, el Parkinson, el síndrome de Down o la distrofia muscular de Duchenne, en todas las cuales se ven afectadas diversas funciones cognitivas.

Anestesia cerebral

Entre las más importantes técnicas de inducción de inactivación cerebral o «lesiones cerebrales reversibles», cabe destacar la técnica de anestesia cerebral. Ésta fue empleada por primera vez en seres humanos por John Wada en 1948 (a quien se debe el nombre de la técnica, *test de Wada*). El procedimiento consiste básicamente en la conducción de un catéter a través de la vía de la arteria femoral hasta la arteria carótida interna, lugar donde se libera una sustancia anestésica denominada amital sódico. Sin duda, el test de Wada o del amital sódico intracarotídeo constituye una de las más claras evidencias a la hora de determinar la lateralización del lenguaje en pacientes prequirúrgicos, dado que –anestesiado el hemisferio dominante para el lenguaje– el paciente desarrollará una afasia global transitoria durante los minutos posteriores a la administración del fármaco. Del mismo modo, esta prueba también es empleada para el estudio de los procesos de memoria en pacientes con epilepsia candidatos a la resección quirúrgica del hipocampo. En particular, y dada la conocida especialización hemisférica de esta región en el recuerdo de información verbal y espacial, interesaría conocer la capacidad del hipocampo sano para compensar el déficit que se produciría tras la extirpación del hipocampo disfuncional o lesionado. En estos casos, la realización de tareas de memoria verbal y espacial durante la realización de el test de Wada proporcionaría una información crucial para anticipar las consecuencias de dicha intervención en los procesos mnésicos del paciente.

Estimulación magnética transcraneal

En los últimos años, la aparición de la técnica de estimulación magnética transcraneal (EMT) ha proporcionado una vía

alternativa a la anestesia o a la estimulación eléctrica cerebral, más cómoda y menos invasiva para los individuos a la hora de estudiar el funcionamiento cerebral, al producir una interferencia en su actividad normal (v. Material web. Contenido complementario. Estimulación eléctrica cerebral).

En particular, la lógica subyacente a la técnica es que la emisión de un campo magnético de elevada potencia y de una frecuencia determinada en la proximidad de determinadas regiones cerebrales es capaz de cancelar (o activar, en función de la intensidad, frecuencia y duración del pulso magnético) la actividad eléctrica de los grupos neuronales en la proximidad de la región estimulada (Fig. 4-32).

Otra de las ventajas principales de esta técnica, en comparación con la anestesia, es que proporciona una alta resolución espacial sobre la localización de la región que se desea estimular y una alta resolución temporal sobre la latencia de inicio y duración del pulso de estimulación. Hasta el momento, no existen efectos secundarios descritos derivados del empleo

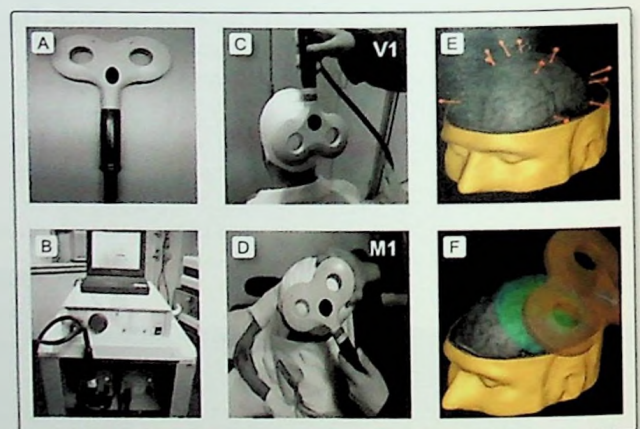


Figura 4-32. A y B) Fotografías de una bobina estándar de estimulación por estimulación magnética transcraneal (EMT) y de un aparato de estimulación. Éste se compone de una unidad de capacitores (A), que acumulan corriente eléctrica, y una unidad central (B) que, bajo el control de un ordenador, sincroniza para cada pulso su liberación hacia un filamento espiral de cobre situado dentro de la bobina de estimulación. La corriente eléctrica, al circular por el filamento de cobre, genera un campo magnético que es dirigido hacia una zona específica del cerebro situada justo bajo el hueso de la calota. La bobina de estimulación se sostiene manualmente o mediante un brazo mecánico sobre la región deseada. C y D) En las fotografías es posible observar su aplicación sobre las regiones visuales primarias del hemisferio derecho, donde cada impulsión inducirá sensaciones visuales en el campo visual contralateral a la estimulación conocidas con el nombre de fosfenos (V1); o en regiones motoras primarias de la representación de los músculos de la mano derecha, sobre las cuales inducirá breves activaciones musculares medibles con el EMG. E y F) Como es posible observar en las dos imágenes, normalmente se utilizan sistemas de neuronavegación estereotáxica para marcar previamente las regiones anatómicas o funcionales que se van a estimular, determinar la posición de la bobina y observar la distribución de corrientes inducidas.

de esta técnica, pese a que su uso está contraindicado en personas con epilepsia. Incluso se están desarrollando aplicaciones terapéuticas de la técnica para el tratamiento de trastornos como la depresión (v. Material web. Contenido complementario. Aplicación de EMT para el tratamiento de la depresión).

Neurocirugía funcional

En las situaciones privilegiadas en las que es posible observar los efectos de lesiones cerebrales bien delimitadas en seres humanos, cabría destacar la del estudio de los déficits cognitivos en pacientes neuroquirúrgicos. Éste podría ser el caso de los pacientes callosotomizados o de aquellos cuyo cuerpo calloso ha sido seccionado quirúrgicamente con el fin de evitar la propagación de la actividad epileptógena resistente a fármacos de localización focal. Estos pacientes constituyen una importante fuente de datos en relación con los efectos conductuales y cognitivos de determinadas lesiones cerebrales bien delimitadas (en la medida en que es el cirujano el que decide cual será la extensión y el tipo de «lesión» que se ha de producir con fines terapéuticos). En particular, el estudio de pacientes con el «cerebro dividido» o callosotomizados permitió a investigadores como Michael S. Gazzaniga profundizar en el estudio de la especialización hemisférica de las funciones cognitivas. Del mismo modo, los pacientes lobotomizados por causa de epilepsias temporales, trastornos depresivos, esquizofrénicos y trastornos obsesivos graves han permitido describir la implicación de otras regiones cerebrales como los lóbulos frontales (lobotomía frontal) o los lóbulos temporales (lobotomía temporal) en la conducta humana. Uno de los casos más famosos a este respecto lo constituye el paciente H. M. descrito por Scoville y Milner en 1957. Con el fin de eliminar definitivamente las crisis epilépticas que H. M. sufría desde los 10 años de edad, sus médicos decidieron extirpar el lóbulo temporal medial de ambos hemisferios de H. M. Tanto el número de crisis epilépticas como su intensidad se redujeron de manera significativa tras la cirugía. Sin embargo, el paciente perdió de forma permanente su capacidad para formar nuevos recuerdos a largo plazo, pese a que sus restantes habilidades intelectuales permanecieron preservadas. Este informe constituye aun hoy en día una de las evidencias más rotundas sobre la implicación de estas regiones del lóbulo temporal en los procesos de consolidación de recuerdos.

Sin embargo, estos estudios no permiten garantizar que el trastorno o enfermedad que propició la cirugía no sea responsable en parte de los déficits posquirúrgicos observados, ni que determinadas áreas cerebrales no eliminadas desempeñen una función anómala como consecuencia de la falta de *input* de las áreas que han sido extirpadas o lesionadas.

Neuropsicología

Además de ser una disciplina aplicada «a caballo» entre la psicología y la neurología, la neuropsicología, según describe la división 42 de Neuropsicología Clínica de la *American Psychological Association* (APA, 2006), es la «Especialidad de la psicología que aplica los principios de evaluación e intervención basados en el estudio científico de la conducta humana en la medida en que ésta se relaciona con el funcionamiento

normal y anormal del sistema nervioso central. La especialidad se dedica a ampliar la comprensión de las relaciones cerebro-conducta y la aplicación de ese conocimiento a los problemas humanos». Por este motivo, la neuropsicología es también considerada en el ámbito de la neurociencia cognitiva como una fuente de datos inestimable sobre las relaciones de la cognición y el cerebro, con métodos y técnicas propios que se describirán a continuación.

Disociación simple y doble

Para identificar una disociación simple, los investigadores observan la ejecución de dos individuos o grupos de individuos con patrones de lesión cerebral diferente durante la realización de dos tareas cognitivas con demandas de procesamiento distintas pero de complejidad similar (p. ej., memoria a corto plazo y memoria a largo plazo). Se considera que existe una disociación simple cuando los dos grupos de individuos sólo se diferencian en la ejecución en una de las tareas. De este modo, podría inferirse que la región lesionada en el grupo de individuos que muestra peor rendimiento en una de las tareas podría estar relacionada con los procesos necesarios para realizar dicha tarea. Por ejemplo, cuando se compara la ejecución de un grupo de individuos con lesión del hipocampo frente a la de otros individuos de control con lesiones en otra región distinta, puede comprobarse que los pacientes con lesiones en el hipocampo son peores que los individuos de control en una tarea de memoria a largo plazo, mientras que no se diferencian de ellos en una tarea de memoria a corto plazo. Este resultado llevaría a pensar que el hipocampo es una estructura importante en el establecimiento de recuerdos a largo plazo. Sin embargo, el estudio de disociaciones simples plantea problemas como el de la asimetría entre tareas. Al respecto, resulta difícil igualar el tipo de demandas de dos tareas diferentes y, de hecho, la mayor dificultad de los pacientes en una de ellas podría deberse a una asimetría en la dificultad entre ellas.

La identificación de disociaciones dobles plantea mayores dificultades, pero elimina este tipo de problemas metodológicos. Al igual que en las disociaciones simples, las disociaciones dobles requieren dos individuos o grupos de individuos (1 y 2) y dos tareas experimentales (A y B). El requisito para describir una disociación doble es que cada uno de los grupos muestre dificultades en una tarea distinta y muestre preservada la ejecución en la otra tarea (el grupo 1 sólo hace mal la tarea A; el grupo 2 sólo hace mal la tarea B). De esta forma, no podría decirse que las diferencias en ejecución entre grupos son debidas a una sensibilidad diferente de una de las dos tareas. Retomando el ejemplo anterior, una posible disociación doble podría obtenerse comparando dos grupos de pacientes con lesiones hipocámpales y frontales. Se hablará de doble disociación en caso de que los pacientes con lesión frontal sólo realicen mal la tarea de memoria a corto plazo y los pacientes con lesión hipocámpal sólo fallen en la tarea de memoria a largo plazo. El método de las disociaciones simples y dobles empleado por la neuropsicología también ha sido empleado en combinación con el uso de otros procedimientos (p. ej., neuroimagen) para el estudio de las alteraciones cognitivas y de activación cerebral asociados a daño cerebral, ampliando

así la utilidad del método, que permite así no sólo el estudio de los procesos cognitivos, sino también el de las bases neuroanatómicas de éstos (Fig. 4-33).

Sin embargo, entre los problemas derivados de este método, podría señalarse el hecho de que la lesión en una región dada puede favorecer el mal funcionamiento de otras regiones intactas. Al respecto, en ausencia de evidencias convergentes y de un conocimiento objetivo sobre la localización de la lesión de los individuos, resultaría arriesgado garantizar que la alteración de una función cognitiva con motivo de la lesión de una región cerebral indica inequívocamente que dicha región sustenta dicho proceso. Este hecho fue demostrado ya en 1947 por Sherrington, al comprobar cómo la lesión experimental de las regiones sensoriales en el perro generaba alteraciones secundarias de tipo motor, pese a que dichas regiones motoras se mostraran intactas.

Estudios de grupo y de caso

Otra de las decisiones metodológicas que se han de tener en cuenta a la hora de estudiar pacientes con lesión cerebral reside en el estudio de grupos frente al estudio de casos únicos. Los estudios de grupos han sido a menudo criticados por los neuropsicólogos denominados «ultracognitivos», quienes los consideran inapropiados en neuropsicología humana debido a la variabilidad que tienden a mostrar los pacientes asignados a dichos grupos. En esa dirección, muchos autores señalan que no existen dos lesiones cerebrales idénticas. El

estudio de casos únicos especiales constituye una vía alternativa al estudio de grupos en el establecimiento de relaciones entre patrones lesionales y patrones conductuales. El estudio de disociaciones dobles en individuos con déficits únicos permite aislar las operaciones que contribuyen a la realización de una tarea. Sin embargo, la metodología de caso único pierde potencia inferencial a la hora de localizar procesos cognitivos en el cerebro, dada la dificultad de generalizar a la población los resultados de un único individuo.

La mejora de la resolución espacial de las técnicas de neuroimagen supone una de las vías para resolver el problema de la variabilidad entre grupos de pacientes con lesión cerebral. Al respecto, la descripción precisa de dichas lesiones contribuye a identificar solapamientos entre regiones lesionadas comunes en los grupos. Si todos los individuos muestran una región cerebral afectada en la misma medida, cabría esperar la presencia de un déficit común asociado a dicha lesión, independientemente de los déficits particulares de cada individuo relacionados con la lesión de regiones no comunes.

CONCLUSIONES

El presente capítulo describe de forma somera alguna de las técnicas más relevantes de las que se disponen en el momento actual los neurocientíficos cognitivos para el estudio de las bases neuroanatómicas y neurofuncionales de la cognición. Tal cual se ha descrito, estas técnicas abarcan diferentes niveles de análisis, desde lo microscópico a lo macroscópico, desde lo anatómico a lo funcional, sin desdeñar el uso de modelos animales para responder a las preguntas que requieren aproximaciones invasivas que no son aplicables en seres humanos. A la luz de lo expuesto, queda patente el alto grado de interdisciplinariedad de esta rama científica integradora, que constituye uno de los más prometedores campos de avance en el estudio de las claves de la relación entre cerebro y conducta.

BIBLIOGRAFÍA

Artículos originales

- Álvarez-Linera J. 3T MRI: advances in brain imaging. *Eur J Radiol* 2008;67:415-26.
- Ariza M, Junque C, Mataró M et al. Neuropsychological correlates of basal ganglia and medial temporal lobe NAA/Cho reductions in traumatic brain injury. *Arch Neurol* 2004;6:541-4.
- Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage* 2000;11:805-21.
- Bandettini PA. What's new in neuroimaging methods? *Ann NY Acad Sci* 2009;1156:260-93.
- Blamire AM, Ogawa S, Ugurbil K et al. Dynamic mapping of the human visual cortex by high-speed magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:11069-73.
- Castilla-Ortega E, Pedraza C, Estivill Torrús G, Santín LJ. When is adult hippocampal neurogenesis necessary for learning? Evidence from animal research. *Rev Neurosci* 2011;22:267-83.
- Conchello JA, Lichtman JW. Optical sectioning microscopy. *Nat Methods* 2005;2:920-31.
- Damoiseau JS, Greicius MD. Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Struct Funct* 2009;213:525-33.

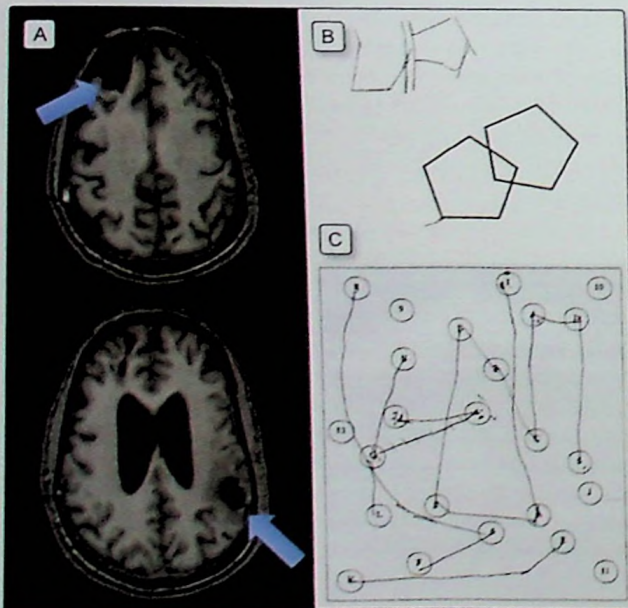


Figura 4-33. Rendimiento neuropsicológico en un paciente con traumatismo cerebral. A) Imagen de resonancia magnética de un paciente con traumatismo craneoencefálico con una contusión frontal derecha y parietal izquierda, con una dilatación ventricular. Su rendimiento en tareas neuropsicológicas se encuentra afectado tanto al copiar una figura geométrica sencilla [B] como al realizar la prueba Test del Trazo B (*Trail Making Test B*), en la que debe unir los puntos de la hoja alternando números y letras en orden ascendente [C].

- Detre JA, Leigh JS, Williams DS, Koretsky AP. Perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1992;23:37-45.
- Gómez Utrero E, Sánchez Alonso A, Alijarde MT, Navarrete EG. Valor pronóstico de la electrocorticografía en la epilepsia temporal: patrones de la relación mesial y neocortical. *Rev Neurol* 2001;33:801-8.
- Köbber C, Apps R, Bechmann I et al. Current concepts in neuroanatomical tracing. *Prog Neurobiol* 2000;62:327-51.
- Lichtman JW, Conchello JA. Fluorescence microscopy. *Nat Methods* 2005;2:910-9.
- Miranda R, Nudel U, Laroche S, Vaillend C. Altered presynaptic ultrastructure in excitatory hippocampal synapses of mice lacking dystrophins Dp427 or Dp71. *Neurobiol Dis* 2011;43:134-41.
- Miranda R, Sebie C, Degrouard J et al. Reorganization of inhibitory synapses and increased PSD length of perforated excitatory synapses in hippocampal area CA1 of dystrophin-deficient mdx mice. *Cereb Cortex* 2009;19:876-88.
- Moseley M, Bammer R, Illes J. Diffusion-tensor imaging of cognitive performance. *Brain and Cognition* 2002;50:396-413.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:9868-72.
- O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 1971;34:171-5.
- Palade GE, Palay SL. Electron microscope observations of interneuronal and neuromuscular synapses. *Anat Rec* 1954;118:335-6.
- Palay SL. Synapses in the central nervous system. *J Biophys Biochem Cytol* 1956;2 (4 Suppl 4):193-202.
- Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol* 1994;18:49-65.
- Periáñez JA, Barceló F. Updating sensory versus task representations during task-switching: insights from cognitive brain potentials in humans. *Neuropsychologia* 2009;47:1160-72.
- Periáñez JA, Maestú F, Barceló F et al. Spatiotemporal brain dynamics during preparatory set shifting: MEG evidence. *Neuroimage* 2004;21:687-95.
- Picton TW, Bentin S, Berg P et al. Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: recording standards and publication criteria. *Psychophysiology* 2000;37:127-52.
- Pierpaoli C, Jezzard P, Basser et al. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 1996;201:637-48.
- Ríos-Lago M. Resonancia magnética funcional y neuropsicología: conceptos básicos. *Radiología* 2008;50:351-65.
- Schmitz C, Hof PR. Design-based stereology in neuroscience. *Neuroscience* 2005;130:813-31.
- Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2000;12(1):103-13.
- Semendeferi K, Damasio H. The brain and its main anatomical subdivisions in living hominoids using magnetic resonance imaging. *J Hum Evol* 2000;38:317-32.
- Sherrington CS. The integrative action of the nervous system. New Haven, CT: Yale University Press; 1947.
- Watkins KE, Paus T, Lerch JP et al. Structural asymmetries in the human brain: a voxel-based statistical analysis of 142 MRI scans. *Cerebral Cortex* 2001;11:868-77.
- Wedeen VJ, Wang RP, Schmahmann JD et al. Diffusion spectrum magnetic resonance imaging (DSI) tractography of crossing fibers. *Neuroimage* 2008;41:1267-77.
- Wood ER, Dudchenko PA, Robitsek RJ, Eichenbaum H. Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron* 2000;27:623-33.

Libros

- Cacioppo J, Tassinary LG, Berntson GG. Handbook of psychophysiology. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- Carretié L. Psicofisiología. Madrid: Pirámide, 2001.
- Carlson NR. Fisiología de la Conducta, 8ª ed. Madrid: Pearson Educación, 2006.
- Fuster JM. The prefrontal cortex, 4ª ed. London: Elsevier, 2008.
- Gazzaniga, MS, Ivry RB, Mangun GR. Cognitive neuroscience: the biology of the mind. New York: WW Norton, 1998.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Neurociencia y conducta. Madrid: Prentice Hall, 1997.
- Kolb B, Wishaw IQ. Neuropsicología humana, 5ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2006.
- Maestú, F, Ríos-Lago M, Cabestrero R. Neuroimagen funcional y cognición. Barcelona: Masson-Elsevier, 2008.
- Mori S, Wakana S, Nagae-Poetscher LM, Van Zijl PC. MRI Atlas of human white matter. Amsterdam: Elsevier, 2005.
- Rugg MD, Coles MGH. Electrophysiology of mind. Oxford: Oxford University Press, 1995.
- Stuss DT, Knight RT. Principles of frontal lobe function. New York: Oxford University Press, Inc., 2002.
- Tirapu Ustarroz J, Ríos Lago M, Maestu F. Manual de neuropsicología. Barcelona: Viguera, 2008.

Actividad espontánea del cerebro: bases de la conectividad funcional

5

E. Proal, M. de la Iglesia Vayá y F. X. Castellanos

☑ Resumen conceptual

- ✓ Como se ha comentado en el capítulo 4, existen diferentes técnicas que hacen posible el estudio del cerebro humano *in vivo*. De hecho, desde el comienzo de la electroencefalografía en 1930, los investigadores se dedicaban a estudiar la actividad generada por el cerebro, esto es, registraban la actividad eléctrica cerebral de un individuo en estado basal (de base), sin realizar ninguna tarea, sólo comparando los cambios de las señales eléctricas cerebrales con los ojos abiertos y con los ojos cerrados.
- ✓ Posteriormente, surgieron los estudios mediante electroencefalograma con potenciales evocados, los cuales marcaron un hito para la época, ya que comenzaron a hacer posible el estudio de ciertos comportamientos cognitivos y su relación con las señales producidas por la estimulación eléctrica del cerebro. Este método abrió un nuevo enfoque y dio pie, en 1991, al comienzo de la resonancia magnética funcional (RMf), que como se mencionó en el capítulo 4, ha sido hasta hoy la técnica más aplicada en el campo de la neurociencia cognitiva. Sin embargo, se estima que cuando se mide la actividad cerebral por medio de RMf mediante la aplicación de un paradigma de estimulación o alguna tarea específica, para detectar la percepción de estímulos, realmente sólo se está midiendo un pequeño porcentaje de la energía consumida por el cerebro.
- ✓ Es a partir de los hallazgos de Biswal et al. en 1995, y fundamentalmente por el impulso de Raichle y su grupo a principios del siglo XXI, cuando se comenzó a estudiar la actividad espontánea del cerebro, actividad que no es inducida por ningún tipo de tarea, pero resulta ser la principal fuente de consumo energético del cerebro. Ambos grupos observaron que las señales que se habían eliminado en los estudios con RMf inducida mediante tarea (en adelante, RMf-tarea), por considerarse ruido o no atribuibles a la tarea, parecían ser señales generadas de modo autónomo por el propio cerebro y, por lo tanto, cruciales para poder entender la función de éste. Mediante el uso de diferentes técnicas de neuroimagen, el estudio de dichas señales y de su organización ha permitido desarrollar un novedoso campo de estudio dentro de la neurociencia cognitiva, el estudio de las señales o fluctuaciones espontáneas en estado de reposo (en adelante, RMf-reposo). Aunque todavía falta mucho por entender acerca del funcionamiento cerebral, la RMf-reposo está ayudando a medir y registrar procesos, mecanismos y circuitos cerebrales que habían sido observados con anterioridad a través de estudios con animales o estudios *post mortem* y que ahora pueden ser medidos en seres humanos y en vivo. El estudio RMf-reposo está abriendo las puertas a un nuevo paradigma en el campo de la neurociencia cognitiva. En este capítulo se abordarán las bases y aplicaciones principales de esta nueva perspectiva.

🎯 Objetivos de aprendizaje

- Conocer el concepto de actividad intrínseca cerebral.
- Conocer y adentrarnos en el concepto de conectividad cerebral.
- Estudiar la clasificación de las principales técnicas empleadas en la exploración de la conectividad funcional.
- Conocer las aplicaciones del estudio de conectividad funcional en neurociencia cognitiva.
- Conocer las ventajas de la aplicación de resonancia magnética funcional en estado de reposo en comparación con otras técnicas.
- Familiarizarse con el vocabulario de las técnicas utilizadas para el estudio de la conectividad funcional mediante RMf-reposo.
- Descubrir la importancia de la colaboración entre los distintos laboratorios a nivel mundial y la colaboración de la investigación en abierto.

■ INTRODUCCIÓN

En el ser humano, el cerebro representa el 2% de toda su masa corporal y, a pesar de ser sólo una pequeña parte del cuerpo, es el responsable de utilizar el 20% de la energía consumida por el hombre. Cuando se lleva a cabo una tarea o actividad específica que implique concentración o reflexión, sólo se utiliza el 5% de esta energía metabólica. De hecho, justamente este 5% es el que puede ser medido y observado por medio de la RMf. Es en este momento cuando se plantea la siguiente cuestión: si esto es así ¿en qué emplea el cerebro la mayor cantidad de energía?

Anteriormente se comparaba la funcionalidad de este órgano a la de un ordenador, de modo que dejaba de funcionar cuando se «bloqueaba». Del mismo modo, y siguiendo con el símil, se pensaba que la mayor actividad cerebral se realizaba mientras el cerebro estaba encendido o realizando alguna determinada actividad. Sin embargo, con el avance de la tecnología y de la investigación, se ha podido comprobar que esta idea es errónea, ya que la actividad cerebral continúa aun estando en estado de reposo, cuando el cerebro deja de pensar de manera focalizada e incluso hasta en los períodos de sueño. Para poder estudiar esta actividad cerebral en reposo, que como ya puede intuirse, es en la que el cerebro consume más energía, se utiliza la técnica de RMf-reposo, sin la necesidad de presentar una tarea o estímulo específico. El hecho de poder estudiar la función cerebral en dicho estado brinda interesantes planteamientos nuevos tanto para el área de la investigación como para la intervención clínica, ya que es una técnica fácil de aplicar y que permite obtener resultados fiables y reproducibles.

En este capítulo se explicará cómo nace este nuevo paradigma para estudiar el cerebro humano, las nuevas herramientas que se han implementado y, además, hacia dónde se pretende ir con estos resultados en un futuro no muy lejano.

■ ACTIVIDAD INTRÍNSECA CEREBRAL

Antecedentes del estudio de las fluctuaciones espontáneas cerebrales

El inventor del electroencefalograma (EEG), Hans Berger, fue el primero en observar que el cerebro está en constante actividad. Este investigador destacó en 1929 que las oscilaciones eléctricas capturadas por un electroencefalógrafo continuaban en actividad aun cuando la persona se encontraba en estado de reposo. Sin embargo, el hecho de que las medidas electroencefalográficas no se pueden localizar con precisión, debido a la baja resolución espacial de la técnica, impidió que esta idea siguiera desarrollándose. Esto llevó a que los investigadores focalizaran su trabajo en detectar la activación de ciertas regiones cerebrales mientras un individuo emite una respuesta ante una tarea o estímulo controlado en el tiempo. Para poder obtener la actividad eléctrica que está relacionada con un determinado estímulo o proceso cognitivo, se realizan múltiples ensayos, se promedian las activaciones que se producen durante la tarea y se desechan las señales cerebrales espontáneas que no están implicadas.

A partir de estos avances fue cuando la RMf surgió como nueva técnica para analizar la función cerebral, ya que —com-

parada con la del EEG— cuenta con una mejor resolución espacial. Esto permitió obtener resultados espectaculares en el campo de la neurociencia cognitiva (entre otras ciencias), ya que detectan activaciones cerebrales en regiones mucho más precisas relacionadas con determinados procesos cognitivos.

Supóngase que quiera estudiar cuáles son las áreas del cerebro que intervienen durante el procesamiento de una tarea motora sencilla, por ejemplo, cuando los dedos de una mano se mueven en oposición al pulgar. Para ello, habría que introducir a la persona en la máquina de RM y pedirle que, cuando se le indique, mueva sus dedos uno a uno por períodos de 30 segundos consecutivos, alternando con períodos de descanso y repitiendo el proceso durante 5 o 6 veces. De esta forma, después de capturar la señal procedente del escáner y aplicando técnicas avanzadas de posproceso, podría observarse qué regiones del cerebro han sufrido una vasodilatación causada por un incremento de la oxihemoglobina en sangre. En este contexto, aquella área que ha sufrido dicho cambio y a su vez ha superado un umbral estadístico preestablecido se mostraría con un color específico que denotaría aquella región cerebral implicada en el proceso motor que es objeto de estudio (v. Anexos 1 y 2).

Al extraer esa señal de una tarea, aun tan sencilla como la tarea motora, el investigador se enfrenta con la dificultad de deshacerse de otras señales producidas por el cerebro y que no están relacionadas con la tarea aplicada. A estas señales se las conoce como «ruido» o actividad basal, y hasta no hace mucho tiempo fueron consideradas como producto de procesos fisiológicos tanto cardíacos como respiratorios. Sin embargo, hoy en día se sabe con certeza que este «ruido» también contiene una actividad producida intrínsecamente por el propio cerebro y correlaciona con distintos circuitos corticales bien identificados. A dicha actividad de baja frecuencia se la conoce como fluctuaciones espontáneas cerebrales.

Fluctuaciones espontáneas lentas del cerebro

Todo sistema biológico complejo contiene oscilaciones y fluctuaciones que suelen ser difíciles de comprender y aislar, ya que se interrelacionan de manera dinámica. En el caso de la actividad neuronal, existen diferentes intervalos de fluctuaciones, principalmente medidas por técnicas electroencefalográficas, como se expuso en el capítulo 4. Fue a finales del siglo XX cuando en los estudios de la dinámica cerebral comenzaron a tener en cuenta estos intervalos de fluctuaciones muy lentas (por debajo de 0,1 Hz), las cuales antes habían sido ignoradas. Ahora se está comprobando que estas oscilaciones sincronizan la actividad de zonas espacialmente alejadas.

Gracias a la disponibilidad de datos electrofisiológicos en animales experimentales, y especialmente en seres humanos preparados para cirugías del cerebro, se ha podido confirmar que estas fluctuaciones de baja frecuencia se generan de manera espontánea por el cerebro, lo cual hoy en día es de gran importancia para la neurociencia cognitiva.

A pesar de que estas fluctuaciones cerebrales observadas no son ondas regulares y sinusoidales, se pueden caracterizar usando las mismas dimensiones de frecuencia, amplitud y fase que se aplican a todo fenómeno oscilatorio.

- **Frecuencia.** Es una magnitud que mide el número de repeticiones por unidad de tiempo de cualquier fenómeno o suceso periódico. Concretamente, en el caso de las fluctuaciones lentas se refiere al número de ciclos recorridos por segundo (Fig. 5-1).
- **Amplitud.** Se refiere a la intensidad de una fluctuación, medida de pico a pico. En el caso de la RMf, se suele usar la unidad de cambio en la intensidad media de la señal dependiente del nivel de oxígeno en la sangre (*blood oxygen level dependent*, BOLD), medida en porcentaje (Fig. 5-1).
- **Fase.** Se refiere al punto particular en el ciclo de una onda o fluctuación. Se mide en términos de ángulos en grados, típicamente entre 0 y 360, y es un factor importante en la interacción entre fluctuaciones. Dos fluctuaciones con el mismo ángulo entre sí de 0° están completamente sincronizadas de manera que se refuerzan. Dos fluctuaciones con diferencia de 180° entre sí están anticorrelacionadas, de modo que el pico de una fluctuación coincide con el fondo de la otra y viceversa (Fig. 5-2).

■ CONECTIVIDAD CEREBRAL

El cerebro humano es una compleja red de regiones interconectadas estructural y funcionalmente. Se ha podido observar en los estudios neurocientíficos que la comunicación funcional entre regiones del cerebro desempeña un papel clave en los procesos cognitivos complejos. Es por ello que la integración de la información a través de las distintas regiones del cerebro es objeto de estudio en la actualidad. La exploración de la conectividad cerebral proporciona nuevos horizontes de estudio de la organización del cerebro humano.

Principios fundamentales de la conectividad cerebral

En el cerebro concurren dos principios complementarios de organización, la segregación y la integración funcional. A continuación se explican ambos conceptos.

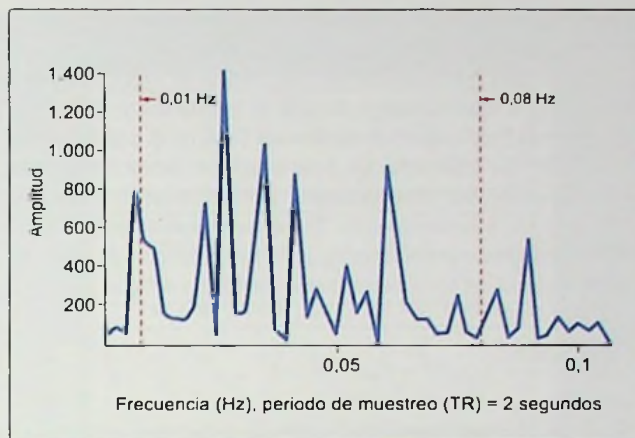


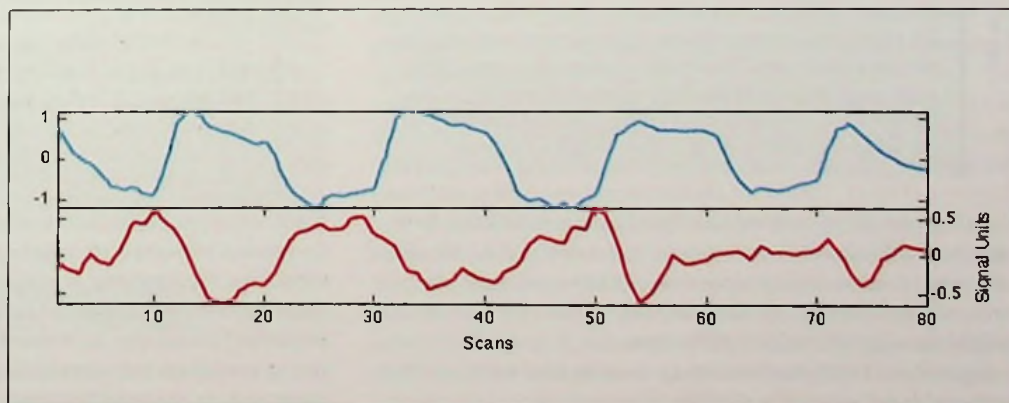
Figura 5-1. Representación de los componentes de fluctuaciones periódicas caracterizadas principalmente por tres parámetros: amplitud de onda y de pico a pico, frecuencia y fase. Las fluctuaciones fisiológicas no suelen ser tan regulares como las que se presentan en la figura; sin embargo, para fines de ilustración se presenta esta fluctuación regular.

Segregación

La segregación funcional parte del principio de que existen algunas tareas que pueden asociarse a regiones concretas del cerebro, tratando de delimitar las diferentes regiones asociadas a funciones especializadas más primarias.

Los trabajos de Paul Broca y sus contemporáneos marcaron un hito en esta materia y empezaron a considerar la existencia de asociaciones entre determinadas localizaciones y funciones específicas. La caracterización de la actividad cerebral en términos de especialización funcional de las áreas del cerebro superiores, tanto cognitivas como sensoriales, ha sido el enfoque principal de la neuroimagen funcional. Sin embargo, la actividad cerebral caracterizada en términos de especialización funcional no revela nada sobre cómo las diferentes áreas cerebrales se comunican entre sí, proporcionando una visión limitada del sustrato de los procesos investigados.

Figura 5-2. Representación de ondas anticorrelacionadas. El pico de la fluctuación en color azul se encuentra en la dirección opuesta al pico de la fluctuación en color rojo. Este patrón de anticorrelación denota que estas dos fluctuaciones están sincronizadas de manera inversa.



Como se ha podido comprobar en multitud de estudios de conectividad, muchas actividades mentales no presentan una ubicación clara. Esto ocurre con frecuencia en cualquier actividad mental más compleja, la cual se subdivide y se reparte por distintas localizaciones cerebrales. Es el caso, por ejemplo, de los cálculos matemáticos o de la acción de reconocer un rostro. Para abordar estas tareas, se activan muchas zonas del cerebro y no solamente una. Estos procesos cognitivos no pueden entenderse solamente como específicos de una región, ya que el cerebro nunca actúa de forma aislada.

Integración

El término integración indica que las funciones cerebrales están ligadas de manera dinámica y no como una sucesión jerárquica. Los procesos en el cerebro no convergen en un solo lugar, sino que ocurren de forma paralela y a través de una estructura distribuida de diferentes áreas que están implicadas para crear una experiencia completa.

Cada vez es más evidente que el cerebro ejecuta muchas funciones en paralelo, relacionadas entre sí pero que ocurren diferentes y distantes, creando circuitos neuronales que son dependientes de alguna función cognitiva más compleja.

En los últimos años se están realizando hallazgos que abren un amplio abanico de tareas cerebrales que pueden ser clasificadas en función de su patrón de conexiones neuronales. Este hecho ha conducido a la investigación sobre técnicas que permiten analizar funciones mentales de orden superior, como el razonamiento abstracto. Es de esperar que estas técnicas que se centran en el estudio de la conectividad entre áreas cerebrales permitan mejorar de forma directa los diagnósticos y, de forma indirecta, los tratamientos de trastornos mentales como el autismo, la depresión y la esquizofrenia.

Clasificación de la conectividad cerebral

Para poder entender mejor el concepto de conectividad funcional, es necesario diferenciar dicha conectividad de la conectividad estructural.

Conectividad anatómica o estructural

La conectividad anatómica o estructural estudia la red de conexiones físicas de conjuntos de neuronas enlazadas (red sináptica), así como sus atributos biofísicos estructurales asociados, caracterizados por parámetros como fuerza o efectividad sináptica.

Diferentes técnicas invasivas ofrecen la posibilidad de establecer cuáles son las conexiones axonales reales. Sin embargo, las de resonancia magnética (RM) como imagen por tensor de difusión (DTI), aunque carecen del mismo nivel de detalle, son las técnicas más apropiadas, hoy en día, como marcadores *in vivo* para determinar la existencia y los cambios temporales en los tractos de fibra.

Conectividad funcional

La conectividad funcional, a diferencia de la conectividad estructural, es altamente dependiente del dominio del tiempo. Cabe señalar que la conectividad funcional no hace ninguna referencia explícita a los efectos direccionales específicos (causa-efecto) o a un modelo estructural subyacente. La conectividad funcional se define como la dependencia temporal de la actividad neuronal entre regiones cerebrales anatómicamente separadas. Esta dependencia temporal, aunque está relacionada con la conectividad estructural y lógicamente se verifica en regiones cercanas y conectadas, también puede existir entre regiones que no estén directamente unidas por haces axonales.

La comunicación funcional entre regiones es de suma importancia para llevar a cabo diversos procesos cognitivos, integrando información a través de diferentes regiones cerebrales (integración funcional).

La conectividad funcional se aborda desde diversos campos y hasta el día de hoy se estudia mediante diversas técnicas de análisis como EEG, la espectroscopia basada en luz infrarroja, registros de neuronas individuales y RMf durante la ejecución de tareas y en reposo.

Para estudiar la organización y la estructura de la conectividad funcional se analizan fluctuaciones espontáneas de baja frecuencia en el cerebro.

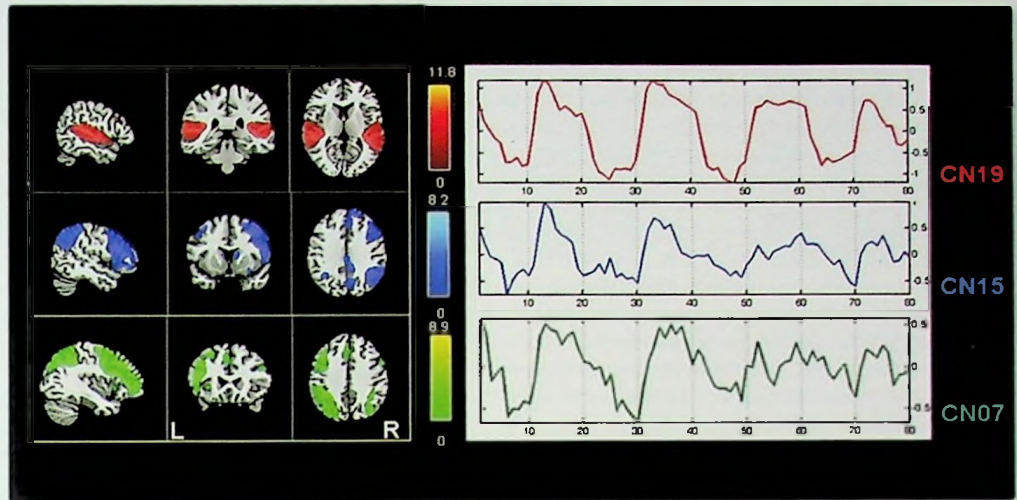
De esta forma, es posible establecer un mapa de canales de comunicación funcional entre regiones del cerebro cuantificando mediciones como el nivel de correlación extraído de la dinámica de las series temporales de RMf. Se puede concluir, por lo tanto, que el concepto de conectividad funcional está definido en base a correlaciones temporales entre dos o más regiones alejadas en el espacio. Cabe suponer que tales correlaciones o sincronizaciones son resultado de conectividades directas entre neuronas, grupos neuronales o de conexiones indirectas entre grupos neuronales (Fig. 5-3).

Conectividad funcional frente a conectividad estructural

Para interrelacionar estos dos conceptos de manera conjunta, cabe plantearse la siguiente cuestión: ¿cuál es el mecanismo por el que dos áreas cerebrales distantes están coactivadas en un momento dado en estado de reposo?

Debido a la propia definición del fenómeno, se puede cuestionar cómo es que muchas de las redes detectadas en estado de reposo consisten en regiones corticales anatómicamente separadas. Obviamente, se plantea la siguiente cuestión: ¿cómo estas regiones son capaces de permanecer funcionalmente conectadas? Dado que las fluctuaciones espontáneas en estado de reposo reflejan el curso de la actividad neuronal, la comunicación entre regiones separadas del cerebro implica táctica-

Figura 5-3. Representación de grupos neuronales alejados espacialmente. Se puede observar la correlación temporal o sincronización, definida por la componente independiente representativa de cada grupo. Figuras pertenecientes a un estudio de resonancia magnética funcional con paradigma de estimulación auditiva, sesión con prosodia de contenido neutro. CN07: componente frontoparietal izquierda; CN15: componente frontoparietal derecha; CN19: componente bilateral temporal; D: derecha; I: izquierda.



mente la existencia de algunas conexiones estructurales que se encuentren vinculadas para apoyar la comunicación en curso.

! Cuando se habla de conexiones estructurales, se hace referencia a tractos de sustancia blanca que describen cómo los paquetes axonales de larga distancia se interconectan directamente con grandes grupos de neuronas separadas espacialmente.

Estableciendo un símil, puede considerarse que los tractos de sustancia blanca son las autopistas de la información del cerebro, que permiten el transporte de gran cantidad de datos funcionales entre las regiones separadas espacialmente. En este contexto, cuando se detecta una alta correlación en las series temporales de RMf-reposo de regiones del cerebro que se encuentran anatómicamente separadas, se refleja un curso o camino de comunicación funcional interregional subyacente. Esto implica que debe haber un núcleo estructural de conexiones de sustancia blanca para facilitar esta comunicación neuronal. Recientemente, varios estudios en los que se han combinando técnicas de RMf-reposo con mediciones de imágenes de DTI han sugerido la existencia de una asociación directa entre la conectividad funcional y la conectividad estructural en el cerebro humano (Fig. 5-4).

> Es importante tener en cuenta que la conectividad estructural implica conectividad funcional, sin embargo *no toda* conectividad funcional conlleva una conectividad estructural directa. Un ejemplo claro de esto último es el caso de la corteza visual primaria, en la cual se verifica una fuerte conexión funcional entre los hemisferios cerebrales derecho e izquierdo, sin la presencia de conexiones estructurales.

■ CONECTIVIDAD FUNCIONAL MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

En neuroimagen, el término conectividad funcional se ha utilizado tanto en RMf-tarea como en RMf-reposo, con refe-

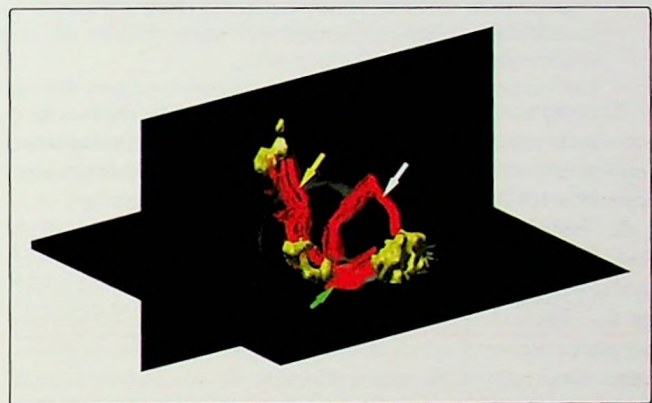


Figura 5-4. Se muestra la integración de la RMf y la DTI para el estudio y análisis de la estructura-función en la red de lenguaje. Se observa un conjunto de fibras que conectan el hemisferio izquierdo a lo largo de la ruta 1 (área de Broca a la área motora suplementaria) (flecha amarilla) y la ruta 2 (área de Broca a la área de Wernicke). En este caso, el camino está compuesto por fibras con dos vías de conexiones separadas: la vía dorsal (flecha blanca) y la vía ventral (flecha verde).

rencia a las correlaciones que existen entre dos regiones cerebrales distintas cuando se comparan grupos, tareas, bloques o puntos temporales de la actividad BOLD estudiada de forma individual (dependiente del nivel de oxígeno en sangre). Es por ello que, utilizado para diferentes análisis, este concepto ha causado cierta confusión.

Este capítulo se centra en la RMf-reposo, la cual –hasta el momento– es la técnica más utilizada por diversos grupos de investigación para tratar de entender la actividad intrínseca generada por el cerebro humano.

Por medio de la RMf-reposo, durante períodos de inactividad mental se pueden observar señales de baja frecuencia y de gran amplitud, que son producidas por el paso de flujo sanguíneo en las diferentes zonas del cerebro. Por otro lado, se observa que la actividad del flujo sanguíneo de las regiones denominadas de alta interconexión tiende a subir y bajar sincronizadamente, delineando redes en el cerebro

Recuadro 5-1. Los hemisferios cerebrales consiguen sincronizarse sin cuerpo calloso

- Imaginense dos ordenadores no conectados por un cable pero que tienen un medio de comunicación suficiente para estar sincronizados. No parece extraño, ¿verdad? Lo que sigue lo es, y mucho. Un equipo de investigadores encabezado por Michael Tyszka, del *California Institute of Technology* (Caltech), de Estados Unidos, ha encontrado que personas que nacen sin el cuerpo calloso [que, tal como hemos comentado en el capítulo 3, se trata de un tipo de fibra comisural que une los dos hemisferios del cerebro], un trastorno que se conoce como agenesia del cuerpo calloso, siguen mostrando unas comunicaciones llamativamente normales entre las dos mitades de sus cerebros. El hallazgo, que se publicó en el *Journal of Neuroscience* (Tyszka et al., 2011) tiene implicaciones para el estudio del espectro autista e, incluso, para las teorías sobre la conciencia.
- Nuestros encéfalos nunca descansan. Cuando soñamos despiertos, cuando reposamos tumbados sin pensar en nada, existe una gran cantidad de comunicaciones entre las diferentes regiones encefálicas. Muchas de estas regiones muestran patrones de actividad que varían lentamente y que son muy parecidos entre sí. El hecho de que estas regiones parezcan estar sincronizadas ha llevado a muchos científicos a considerar que todas ellas son parte de una red de interconexión llamada red del estado de reposo. Lo que han encontrado los investigadores es que la red del estado de reposo parece normal en lo esencial en personas con agenesia del cuerpo calloso, a pesar de la falta de conectividad entre los dos hemisferios cerebrales (Fig. 5-5).
- Es de destacar que las personas que padecen agenesia del cuerpo calloso carecen de alrededor de 200 millones de conexiones respecto a los individuos que no la padecen y que, además, dichas conexiones no son banales, ya que son las que unen los dos hemisferios cerebrales. La agenesia del cuerpo calloso ocurre en 1 de cada 4.000 nacimientos y se produce durante el desarrollo fetal, cuando las fibras del cuerpo calloso no consiguen salvar la separación entre los dos hemisferios. Al tratarse de ordenadores queda claro que puede haber otro tipo de comunicación, pero en el ser humano, si «faltan los cables», ¿cómo se comunican las dos mitades del cerebro? Hay que postular la existencia de medios indirectos y, actualmente, desconocidos (Fig. 5-6).
- Los estudios mencionados se realizaron mediante RMf en 8 individuos con agenesia del cuerpo calloso e inteligencia normal y 8 individuos de control. Ambos grupos mostraron una correlación homotópica (en los mismos lugares) muy robusta en la señal BOLD. Sorprendentemente, prácticamente todos los componentes independientes a nivel de grupo identificados en los individuos de control se encontraron en el grupo con agenesia del cuerpo calloso y eran predominantemente simétricos bilateralmente.
- Si tenemos presente que la agenesia del cuerpo calloso está muy relacionada con el autismo (un tercio de las personas con agenesia del cuerpo calloso padecen alguna condición del espectro autista), desde un punto de vista clínico este hallazgo nos puede llegar a entender con mayor claridad el funcionamiento del cerebro autista (v. Material web. Contenido complementario. Los hemisferios cerebrales consiguen sincronizarse sin cuerpo calloso).

(v. Material web. Animaciones y vídeos. Vídeo 1. Actividad cerebral en estado de reposo).

Aunque la RMf-tarea ha proporcionado una valiosa información acerca de las diferentes áreas cerebrales relacionadas con procesos cognitivos complejos (p. ej., atención, reconocimiento de caras, memoria), la falta de consistencia y la larga duración de tareas/paradigmas dentro de la máquina han hecho difícil su aplicación en determinadas poblaciones clínicas, debido a que los deterioros cognitivos graves pueden presentarse como un obstáculo a la hora de capturar la señal, como sucede en el caso de esquizofrenia, demencias, etc. En cambio, la RMf-reposo ha permitido en los últimos años identificar circuitos de conectividad funcional a nivel individual y, debido a su fácil aplicación, esta técnica tiene un gran potencial para poder ser utilizada en el área clínica.

Es muy interesante estudiar dicha actividad espontánea del cerebro para poder delimitar circuitos cerebrales, que a su vez resultan útiles en el conocimiento del funcionamiento normal y patológico del cerebro humano *in vivo*.

El estudio de la conectividad funcional en estado de reposo por medio de RMf comenzó su andadura alrededor de 1995, cuando un estudiante de doctorado, Bharat Biswal, perteneciente al centro universitario *Medical College of Wisconsin*, rea-

lizó un estudio de RMf-tarea aplicando una tarea motora, con el objetivo de examinar patrones de actividad neuronal del sistema motor. Como era de esperar, los resultados mostraron que durante la ejecución de la tarea motora de pulsación de dedos se activaban las regiones de las áreas motora primaria y motora suplementaria.

Sin embargo, en aquella época Biswal y sus colaboradores decidieron prestar atención no sólo a la señal asociada a la tarea motora, sino también a la señal-ruido que normalmente era descartada en este tipo de estudios de neuroimagen, ya que estos investigadores tenían la suposición de que además

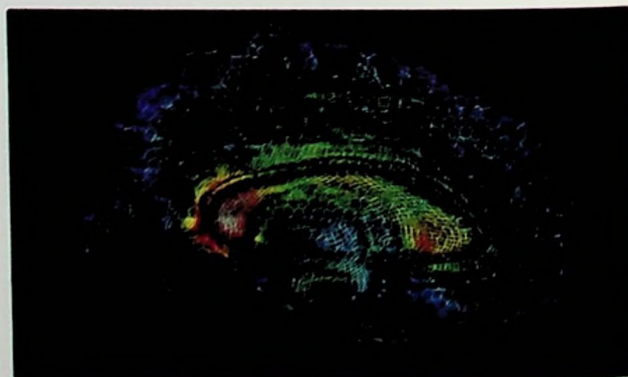


Figura 5-5. Representación mallada del cuerpo calloso mediante TextBox.

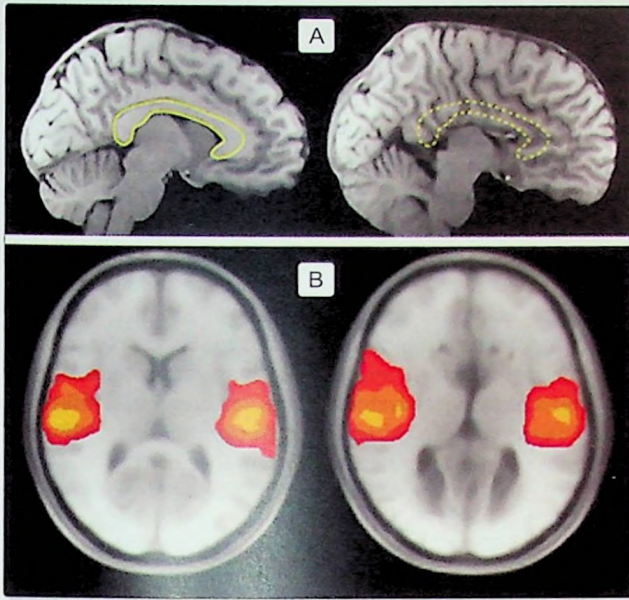


Figura 5-6. A) Comparación de imágenes de resonancia magnética de un individuo sano (izquierda) y un paciente con agenesia del cuerpo calloso (derecha). Se puede observar el cuerpo calloso con una estructura delineada en forma de «C» en un cerebro sano y su ausencia en el cerebro con agenesia del cuerpo calloso. B) Imágenes de resonancia magnética funcional de patrones simétricos en la actividad sincronizada, tanto en un individuo sano (izquierda) como en un paciente con agenesia del cuerpo calloso (derecha), en estado de reposo.

de tratarse de ruido, esta actividad era propia del cerebro. A través de esta hipótesis, decidieron realizar un segundo análisis, ubicando a los individuos en la máquina de resonancia sin realizar ningún tipo de tarea, solamente mirando a un punto fijo y dejando que el cerebro «hablara» por sí solo. De esta forma, adquirieron lo que hoy se denomina RMf-reposo. Fue entonces cuando se dieron cuenta de que, si se centraban en estudiar la señal BOLD en una zona específica del cerebro, en este caso el área motora derecha, podían extraer fluctuaciones espontáneas de esta región y, posteriormente, preguntarse con qué otras regiones del resto del cerebro se correlacionaban dichas señales; en otras palabras, qué otras áreas cerebrales estaban relacionadas con esta región motora del hemisferio derecho (Fig. 5-7).

Curiosamente, los resultados mostraron que las oscilaciones lentas se correlacionaban con la región motora derecha seleccionada, y pertenecían a las mismas áreas observadas durante el estudio de RMf-tarea, áreas motoras primaria y suplementaria. Es decir, tanto durante la realización de la tarea como en estado de reposo, se destacaron áreas y circuitos casi idénticos. Este hecho llevó a pensar que los circuitos implicados, en este caso la corteza motora, aunque se activan con más fuerza durante una tarea, prevalecen en ausencia de ésta, lo que indica la existencia de una conexión intrínseca cerebral entre estas regiones.

Los hallazgos de Biswal fueron confirmados por unos cuantos laboratorios; sin embargo, este hecho fue ignorado durante algún tiempo. En 2001, el neurólogo Marcus Raichle y su grupo, quienes se dedicaban a realizar estudios con RMf-

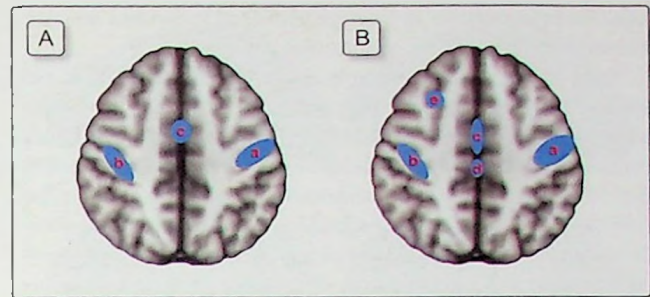


Figura 5-7. A) Activación de las zonas cerebrales relacionadas con la ejecución de tarea motora simple (*finger tapping*). B) Correlación de una semilla seleccionada en el área motora izquierda con otras áreas del cerebro, cuando el individuo está en estado de reposo. Como se puede observar, las áreas cerebrales señaladas a, b y c en ambas figuras son muy similares, lo que muestra que, a pesar de la ausencia de tarea en la figura B, estas áreas están intrínsecamente conectadas. Sin embargo, en B aparecen dos áreas que no se activaron durante la tarea motora (A): la corteza sensoriomotora (d) y el área premotora (e); esta última suele ser activada durante tareas motoras, aunque en este individuo no fue el caso.

tarea, observaron a través de varias adquisiciones que, mientras los individuos ejecutaban una tarea, existían ciertos patrones de desactivación en regiones cerebrales específicas y que esto curiosamente se repetía en todos los individuos a los que aplicaban la técnica, realizando cualquier tipo de tarea. Este suceso dio pie al descubrimiento de lo que hoy es denominado el circuito de activación por defecto (CAD), que se abordará más adelante en este capítulo. Con este hallazgo, los investigadores comprobaron que el cerebro está trabajando incluso en ausencia de tarea y que este órgano tan fundamental consume energía por sí solo.

A partir de los resultados obtenidos por estos grupos de investigación, recientemente en la comunidad neurocientífica se ha despertado el interés por el estudio del comportamiento de dichas señales de baja frecuencia y su papel en el funcionamiento del cerebro humano.



Hoy en día se sabe que las fluctuaciones lentas producidas espontáneamente por el cerebro se observan en estado de reposo, durante el sueño e incluso bajo los efectos de la anestesia.

Esta actividad intrínseca generada por el cerebro se caracteriza porque estas fluctuaciones espontáneas se producen cada 5-100 segundos. En la actualidad, el conocimiento de que dichas oscilaciones no son solamente «ruido», sino que además están estructuradas y organizadas abre un nuevo espectro de posibilidades en este campo de estudio: ¿qué conexiones existen en el cerebro humano? y ¿cómo estas conexiones van formando a su vez circuitos?

Adquisición

Se describirá un protocolo típico de adquisición en RMf-reposo, aunque estos protocolos varían en función del tipo de escáner y del tiempo determinado por el equipo de investiga-

ción. Lo primero que se hace es pedirle al individuo que permanezca sin moverse y con los ojos abiertos.

Se ha tomado como ejemplo de referencia el protocolo publicado en la página web del proyecto INDI (*International Neuroimaging Data-sharing Initiative*) (v. Material web. Contenido complementario. Redes colaborativas de datos de conectividad funcional en estado de reposo). Para realizar la adquisición de la señal, se ha comprobado que con una toma de datos de 6 minutos o algo más de tiempo es suficiente para extraer las fluctuaciones espontáneas de la señal BOLD. También es importante comentar que en el momento de la adquisición de la RMf-reposo, es recomendable realizarla antes de una adquisición de RMf-tarea, o al principio del estudio, para minimizar las diferencias en estado de alerta entre individuos.

Principales técnicas de análisis para procesar los datos de resonancia magnética funcional en reposo

A continuación se revisarán las técnicas más utilizadas para analizar la actividad intrínseca cerebral en RMf-reposo, las cuales están basadas en distintos paradigmas matemáticos (v. Anexos 1 y 2).

Modelos dependientes de hipótesis. *Análisis basado en semilla*

Dentro del amplio abanico de posibles formas de análisis la señal BOLD, su estudio puede clasificarse en dos enfoques fundamentales. El primero está constituido por los métodos basados en hipótesis (*hypothesis-driven*), entre los que destaca el análisis por vóxel semilla. Éste se basa en la selección de una región de interés o semilla; se analiza esta región y se estudia cómo se conecta funcionalmente con otra región de interés o con todos los vóxeles del resto del cerebro. Ello se efectúa mediante la correlación entre las series temporales extraídas de la señal BOLD de la secuencia RMf-reposo a partir de una semilla seleccionada y las series temporales de las demás áreas cerebrales, obteniéndose un mapa de conectividad funcional que determina todas aquellas áreas que tienen una alta correlación con la región de interés o semilla seleccionada. Según el objetivo o la hipótesis del investigador, la semilla puede seleccionarse *a priori*, en función de los resultados de estudios tradicionales de RMf-tarea. En este paso el investigador introduce explícitamente una hipótesis.

Si, por ejemplo, se está interesado en medir y cuantificar el grado de correlación entre distintas áreas del circuito motor, se puede seleccionar la circunvolución precentral como candidata a semilla, ya que esta región ha mostrado activaciones regulares y reproducibles en diversos estudios. La sencillez de este método hace que el análisis por vóxel semilla tenga una gran difusión entre los estudios publicados, aunque proporcionan resultados vinculados a conexiones cerebrales ligadas a regiones predeterminadas por hipótesis. La mayor limitación de esta técnica es que los resultados dependen de la selección inicial de las semillas y, por lo tanto, hay que escogerlas con mucho cuidado para evitar sesgos de selección (v. Material web. Contenido complementario. Conectividad funcional cerebral en reposo de diferentes regiones).

Modelos independientes de la hipótesis. *Análisis basado en componentes independientes*

Existe otro enfoque que intenta obviar la definición *a priori* de una región específica o semilla. Se trata de los métodos exploratorios o sin hipótesis previa; con ellos se examinan los patrones de conectividad funcional a través de todas las regiones cerebrales. Los métodos independientes de la hipótesis son especialmente útiles cuando no se conocen las regiones que están implicadas en una tarea determinada o no se conoce la conectividad funcional.

Los primeros trabajos en utilizar esta metodología estudiaban la integración funcional utilizando el análisis de componentes principales como técnica de posproceso, en el cual se descomponen los datos de RMf en un conjunto de componentes no correlacionados mutuamente ni en el espacio ni en el tiempo. Posteriormente, el análisis de componentes independientes ha demostrado ser una técnica idónea para identificar elementos que describen la actividad en una red ampliamente dispersa. La técnica está basada en la descomposición de los datos de RMf en componentes independientes y se trata de una extensión de los métodos clásicos de separación ciega de fuentes (*blind source separation*). Esta técnica descompone las series temporales de las fluctuaciones detectadas, para así identificar la mayor cantidad de componentes estadísticamente independientes que definen redes funcionales (o circuitos funcionales). Además, esta técnica permite detectar otro tipo de señales, por ejemplo, señales fisiológicas o ruidos relacionados con movimientos o acomodación de la cabeza. El análisis de componentes independientes toma especialmente en consideración todos los vóxeles cerebrales, utilizando un algoritmo matemático que los separa entre diferentes sistemas (circuitos o componentes), que se correlacionan entre sí y que a su vez son independientes del resto. Aunque este análisis tiene muchas ventajas y su aplicabilidad ha abierto las puertas a nuevas posibilidades en el diseño de estudios, los mapas generados con este método son normalmente más complejos de explicar en comparación con los generados con el análisis por vóxel semilla y, por consiguiente, su aplicabilidad presenta algunas restricciones y limitaciones. La metodología de esta técnica ha sido analizada por diferentes autores y existen diferentes variaciones del método. La técnica ha servido para poder explicar de una mejor manera la estructura cerebral a gran escala y se han detectado muchos circuitos gracias a esta técnica en diversos estudios independientes. En la actualidad, también se está utilizando esta técnica en el análisis de los estudios de poblaciones clínicas, problemas cognitivos, depresión, esquizofrenia, enfermedad de Huntington y esclerosis múltiple, sólo por citar algunos de los trastornos más importantes.

Otras técnicas

En este apartado se presentarán otras técnicas utilizadas para estudiar la organización y la función de las redes cerebrales en estado de reposo. Más concretamente, se abordarán las técnicas de *clustering*, clasificación de patrones y teoría de grafos.

Agrupación (*clustering*)

Aunque los modelos independientes de hipótesis (p. ej., el análisis de componentes independientes) son algo menos subjetivos que los modelos basados en hipótesis (como vóxel semilla), en las que el observador decide el área que se ha de explorar. Un enfoque que pretende superar estas limitaciones es la aplicación de técnicas de agrupación (*clustering*) a los datos de RMf-reposo. Las técnicas de agrupación son básicamente un conjunto de técnicas matemáticas que buscan patrones en los datos. El objetivo de la técnica consiste en subdividir los datos en un subconjunto de agrupaciones (*clusters*) por medio de un algoritmo matemático, de manera que las observaciones asignadas al mismo grupo son más similares entre sí que las observaciones asignadas a los demás grupos.

En el contexto del estudio del análisis de la conectividad funcional en RMf-reposo, los algoritmos de agrupación se han utilizado para realizar una parcelación cerebral en grupos de vóxeles o regiones que se encuentran funcionalmente conectados a otras regiones. Cabe resaltar que las técnicas de agrupación aplicadas a datos de RMf-reposo están teniendo una buena aceptación, tanto en la detección de redes de conectividad funcional como en la parcelación arquitectónica (anatómica) del cerebro. Aun así, hay que tener en cuenta algunas limitaciones relativas a la técnica. La más importante es que la mayoría de las técnicas de agrupación necesitan como requisito que un usuario experto defina inicialmente el número de grupos (K) en el que se van a particionar los datos. Puesto que este valor de agrupamiento (K) es desconocido, se suelen calcular soluciones múltiples, utilizando algún sistema métrico que prediga la «bondad» para determinar la solución óptima del número de grupos para ese conjunto de datos.

No existe una medida única o una solución óptima, por lo que se emplean diferentes métodos. En última instancia, es poco probable que la agrupación sea totalmente independiente de la decisión de partición inicial (K) decidida subjetivamente por el usuario, ya que éste tiene que evaluar la idoneidad de los resultados de la agrupación en comparación con las redes de conectividad funcional, tanto hipotéticas como conocidas. Se puede concluir, por lo tanto, que esta técnica depende también de la subjetividad del observador cuando califica la bondad de un agrupamiento, al igual que el análisis de componentes independientes. Un ejemplo de esta técnica se puede observar en la figura 5-8.

Clasificación de patrones

El análisis multifactorial de patrones (*multivariate pattern analysis* o *multi-voxel pattern analysis*, MVPA) ha adquirido un papel importante en el análisis de datos de RMf. Al igual que otros métodos multifactoriales (p. ej., el análisis grupal de componentes independientes), el MVPA tiene en cuenta patrones de varios vóxeles. La información que se encuentra contenida en estos patrones se puede descifrar a través de la aplicación de algoritmos de clasificación de patrones, a diferencia de los métodos monofactoriales que tratan cada vóxel del cerebro de forma independiente. El MVPA se ha aplicado a varios campos de estudio, entre ellos: percepción visual,

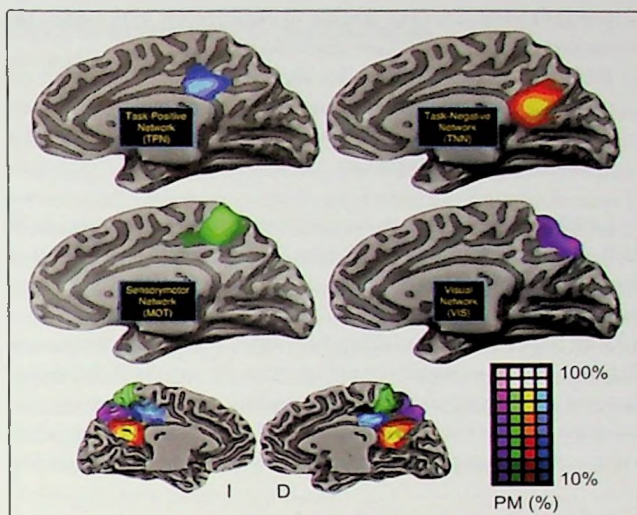


Figura 5-8. Representación de la técnica de agrupamiento (*clustering*). En este caso se observa la corteza posteromedial parcelada. En las dos imágenes inferiores se observan las diferentes agrupaciones (*clusters*) del hemisferio derecho y del hemisferio izquierdo. En las cuatro figuras superiores se reflejan las conexiones de cada una de las agrupaciones de la corteza posteromedial. La agrupación inferior-posterior [rojo-amarillo] está conectando con el circuito *task-negative network* [TNN], también conocido como circuito de activación por defecto. La agrupación inferior-anterior [azul] está conectando con el circuito *task-positive network* [TPN], también conocido como circuito frontotemporal. La agrupación superior-posterior [morado] está conectando con el circuito visual [visual network, VIS]. Finalmente, la agrupación superior-anterior [verde] está conectando con el circuito sensoriomotor [*sensorymotor network*, MOT]. D: derecho; I: izquierdo.

trastornos mentales, codificación neural y en el campo de la investigación de la percepción y la memoria.

Los algoritmos de clasificación de patrones asignan objetos a clases con características específicas. En el caso del análisis de RMf-reposo, estas características son los patrones de coactivación cerebral o conectividad funcional intrínseca, cuyas diferentes clases son estados cognitivos cerebrales diferentes.

La aplicación de la técnica consta de los siguientes pasos básicos:

1. Elección de las características que son descriptivas de los objetos, de forma que los representen; por ejemplo, en el contexto de la RMf-reposo, la clasificación por intervalos concretos de frecuencia (0,01-0,1 Hz: característica A; 0,5-1 Hz: característica B, etc.) o por la amplitud media de la señal.
2. Selección de un subconjunto de estas características, que se utilizará para la clasificación.
3. Selección del algoritmo de clasificación de patrones.
4. División del conjunto de datos en dos partes: una como «conjunto de entrenamiento», para que el clasificador «aprenda», y la otra como «conjunto de pruebas», para validar los resultados obtenidos.
5. Utilización del conjunto de entrenamiento para entrenar al clasificador con las características y las clases de objetos

predefinidos. De esta forma, el clasificador «aprende» las características de la clase que está estudiando.
6. Realización de pruebas del algoritmo de clasificación en cuanto a su capacidad de generalización con el conjunto de pruebas y medición del porcentaje de aciertos para medir la bondad del clasificador.

La técnica de MPA se ha aplicado con éxito al campo de la RMf-reposo. Además de utilizarse para establecer un mecanismo de predicción del estado de las enfermedades, la técnica también tiene un gran potencial para su aplicación en la detección de redes de conectividad funcional, pudiendo diferenciar distintos estados cognitivos del cerebro. En la actualidad no se dispone de un gran número de estudios con RMf-reposo que apliquen esta técnica, por lo que aún hay una falta de estudios comparativos que permitan evaluar sus fortalezas y debilidades.

Teoría de grafos

En 1998 Watts y Strogatz introdujeron el concepto de red de mundo pequeño. Hay ciertas razones, tanto empíricas como teóricas, para entender el cerebro como una red de mundo pequeño, ya que el cerebro soporta procesamiento tanto distribuido como modular (vinculado a los conceptos de segregación funcional e integración funcional). Si se consideran los procesos cognitivos bajo el concepto arquitectónico de una red, ésta es más eficiente cuando intercambia información en varias escalas: una alta agrupación permite un procesamiento modular, mientras que las distancias no tan cercanas permiten un procesamiento distribuido. Así pues, las redes de mundo pequeño maximizan la eficiencia del procesamiento paralelo y minimizan el coste de comunicación entre módulos de nodos, además de ser tolerantes a fallos. Todas estas propiedades resultan ser muy interesantes para dar soporte a las funciones del sistema nervioso central.

La teoría de grafos es el campo de las matemáticas que se utiliza para caracterizar varios aspectos de la estructura de las redes. Dentro del enfoque del estudio de la conectividad funcional, aplicar teoría de grafos implica designar las distintas regiones de interés o vóxeles como nodos de un grafo; las conexiones entre estos nodos constituyen los arcos del grafo. Este planteamiento hace posible explorar las redes de conectividad funcional cerebral mediante herramientas que caracterizan las propiedades típicas de las redes.

En cuanto al uso con los datos de RMf-reposo, la técnica consiste en tomar un conjunto de regiones de interés y asociarlas a nodos de un grafo. Los arcos que unen los distintos nodos del grafo representarán la conectividad funcional (Fig. 5-9), asignándose arcos entre nodos si el coeficiente de correlación supera un determinado umbral. Una propiedad que se ha de estudiar es el camino, definido como una secuencia de nodos que se encuentran conectados. Se puede definir entonces la longitud de camino entre dos nodos como el número de arcos que se atraviesa al pasar de un nodo *i* a un nodo *j*. A su vez, la distancia entre dos nodos de un grafo es la longitud mínima entre todos los posibles caminos que conectan estos nodos.

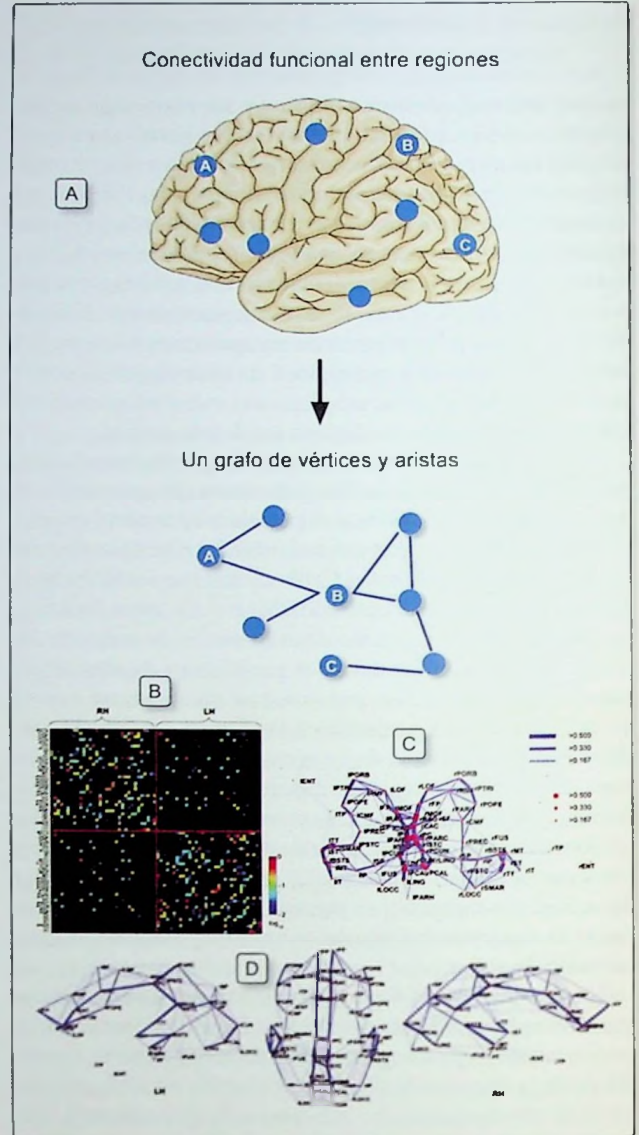


Figura 5-9. A) Figura esquemática que muestra la transformación de regiones de interés a su correspondiente representación en grafo. La distancia entre los vértices A y C es de 4, marcada con línea oscura. El grado de cada vértice [medido por el número de aristas que conectan al vértice] es el siguiente: el de B es 4; el de A es 2, y el de C es 1. El vértice A es vecino del vértice B, pero C no es vecino de B, ya que no se encuentra directamente conectado a B por una arista. Modificado de Margulies et al., 2010. B-D) Matriz de conexión regional promediada, diseño de red y «columna vertebral» de conectividad. B) Matriz de densidad de fibra interregional entre pares de subregiones anatómicas, obtenidas promediando la densidad de fibras para todos los pares de regiones de interés dentro de las regiones anatómicas, y promediando a través de los cinco participantes. Los pesos en las conexiones son simétricos y se representan en escala logarítmica. C) Diseño de la red. D) Vista dorsal y medial de la «columna vertebral» de conectividad mostrada en posición anatómica.

Por otra parte, se puede definir el grado de un nodo como el número de arcos que lo conectan. Para más información sobre la implementación de esta técnica, véase Material web. Enlaces de interés. Herramientas que implementan análisis de

componentes independientes. Herramientas para el estudio de conectividad basado en grafos, basada en *software* MATLAB.

■ APLICACIONES DEL ESTUDIO DE CONECTIVIDAD FUNCIONAL EN REPOSO EN NEUROCIENCIA COGNITIVA

Estudiar la conectividad funcional cerebral por medio de la RMf-reposo tiene importantes implicaciones dentro del campo de la neurociencia cognitiva, y a medida que los estudios están avanzando se abren más posibilidades para expandir el potencial clínico futuro de esta técnica. En este apartado se explica hasta dónde se ha llegado con estos estudios y sus ventajas.

Como ya se ha señalado, el cerebro humano está compuesto por regiones que, aunque tienen su propia función, constantemente están compartiendo la información distribuida. A estas agrupaciones de regiones se las conoce como circuitos funcionales en estado de reposo y, aunque están formados por regiones anatómicamente distantes, desde el punto de vista funcional se encuentran conectadas.

Circuitos funcionales identificados en estado de reposo

Esta comunicación constante entre regiones desempeña un papel muy importante en los procesos cognitivos y en la integración de la información. Para detectar estos circuitos, es necesario medir la conectividad funcional intrínseca cerebral y así poder entender la organización básica del cerebro. A pesar de que se han detectado y reproducido varios circuitos funcionales, se presentan a continuación los más reconocidos en la actualidad. Estos circuitos han sido confirmados por diferentes grupos de investigación. Entre todo el conjunto de estos circuitos, destacan los siguientes siete, nombrados de manera heurística, o sea, provisional: circuito de activación por defecto, circuito somatomotor, visual, límbico, y circuitos de asociación como el frontoparietal, el ventral y el dorsal atencional (Fig. 5-11).

Circuito de activación por defecto

El término «reposo» ha causado confusión, ya que, sin duda, aunque una persona se encuentre en este estado, real-

Recuadro 5-2. Ventajas de la RMf-reposo frente a RMf-tarea

Las técnicas de RMf sirven para observar el funcionamiento cerebral de un individuo. Tanto la RMf-tarea como la RMf-reposo han sido de gran importancia en neurociencia cognitiva, puesto que permiten relacionar los correlatos neuronales con comportamientos o patrones de conducta específicos. Sin embargo, hoy se sabe que aunque la RMf-tarea es muy útil, la RMf-reposo tiene varias ventajas sobre la primera técnica, que se describen a continuación.

- **Delineación de varios circuitos cerebrales en una misma imagen.** La RMf-reposo permite por medio de diversas técnicas extraer y analizar conexiones entre diferentes regiones, lo que permite delinear circuitos cerebrales en vivo. En cambio, la RMf-tarea mide la activación de las regiones que responden a una tarea o estímulo específico, por lo que permite sólo observar conexiones entre ciertas áreas, y sólo las conexiones determinadas por la función cognitiva que se esté midiendo.
- **Posibilidad de utilización en cualquier tipo de población clínica, incluyendo aquella con daño cerebral grave.** La adquisición de RMf-reposo se realiza en tan sólo unos minutos en los que el paciente debe permanecer en estado de reposo, con ojos abiertos, dormido o incluso bajo los efectos de anestesia. Esta facilidad que aporta la técnica permite que sea aplicable a cualquier tipo de trastornos tanto psiquiátricos como neurológicos, ya que –contrariamente a la RMf-tarea– el paciente no debe realizar ningún tipo de tarea. En otras palabras, la RMf-reposo hace factible el estudio de la función cerebral en pacientes que antes eran excluidos por no poder realizar las tareas cognitivas presentadas durante RMf-tarea, por ejemplo, pacientes con demencias graves, psicosis, tumores, y parálisis entre otros trastornos.
- **Estrategia para fines prequirúrgicos y posquirúrgicos.** La RMf-reposo puede ser utilizada como herramienta para guiar la cirugía, pues permite delinear los circuitos de interés. Se pueden hacer estudios prequirúrgicos para planear el camino por el cual el cirujano debe intervenir, y estudios posquirúrgicos para corroborar las consecuencias positivas o negativas de la cirugía y como éstas se ven reflejadas en la funcionalidad de los circuitos cerebrales. Aunque la RMf-tarea también sirve en este tipo de casos, la RMf-reposo es aplicable en todo tipo de pacientes, incluyendo a los que tienen un deterioro grave causado, por ejemplo, por un tumor. La RMf-tarea sólo se puede aplicar en casos en los que el paciente no haya sufrido un deterioro tal que no le permita resolver una tarea cognitiva.
- **Correlatos de desconexión neuronal en trastornos clínicos.** Mediante la RMf-reposo es posible medir el índice de conectividad funcional cerebrales de poblaciones clínicas y compararlo tanto con otro grupo clínico como con individuos de control. Muchas de las enfermedades mentales se conocen en la actualidad como síndromes de desconexión neuronal y la RMf-reposo permite medir esta conectividad de una manera más amplia y completa que la conectividad que se podía medir entre algunas regiones por medio de la RMf-tarea.
- **Índices durante el desarrollo.** Debido a que la RMf-reposo hace posible obtener índices de conectividad funcional por cada persona y por cada circuito y subcircuito, es posible trazar curvas en todas las etapas y/o a lo largo del desarrollo, permitiendo ver las diferencias que van surgiendo en la conectividad cerebral a lo largo de la vida. Esto no se puede obtener de la misma manera con RMf-tarea, ya que es imposible con esta última obtener índices de conectividad de varios circuitos a la vez y, además, la aplicación de la tarea suele ser muy variable. La obtención de índices individuales y a través del tiempo puede servir para estudiar los cambios cerebrales durante el desarrollo y, por otro lado, reunir estos datos a gran escala y a nivel global para construir curvas de normalidad de la actividad y la arquitectura funcional cerebral [Fig. 5-10] (v. Material web. Contenido complementario. Representación dinámica de la conectividad funcional del circuito de activación por defecto durante el desarrollo).

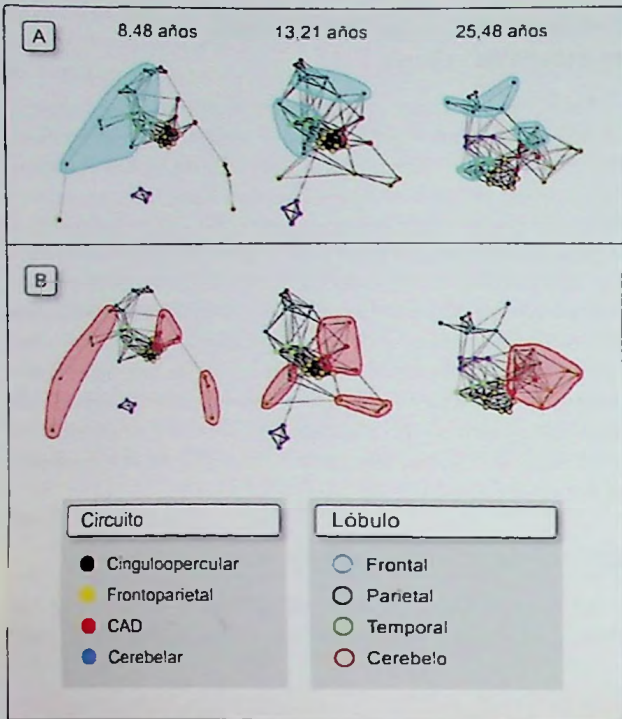


Figura 5-10. Se representa la maduración de la arquitectura cerebral desde una organización local hasta una organización distribuida. Específicamente, se muestran el desarrollo dinámico y la interacción de las correlaciones positivas entre dos circuitos: el circuito de activación por defecto [CAD] y el circuito cerebeloso. A y B representan información capturada de manera instantánea en diferentes etapas de la vida; promedios de edad: 8,48; 13,21 y 25,48 años. Negro: circuito cinguloopercular; amarillo: circuito frontoparietal; rojo: CAD; azul: circuito cerebeloso; azul claro: corteza frontal; gris: corteza parietal; verde: corteza temporal; rosa: cerebelo; rosa claro: tálamo. **A)** En niños las regiones están principalmente organizadas por su localización anatómica, pero a través de los años es las regiones que están agrupadas se van segregando. La agrupación [cluster] de las regiones frontales (en azul claro) demuestra esto claramente. **B)** Algunos de los circuitos que están presentes en los adultos están desconectados en los niños. Con el desarrollo los circuitos funcionales van integrándose. Las regiones separadas del CAD en la niñez (en rojo), que se van convirtiendo en regiones fuertemente correlacionadas entre sí, ilustran esta integración.

mente su cerebro continúa en actividad; por ejemplo, puede estar imaginando, pensando, recordando y –por supuesto– esto también se plasma en cambios de la actividad neuronal. Hoy en día, se tiene conocimiento de la existencia de un circuito encargado precisamente de dichos procesos en estado de reposo, que tiene la peculiaridad de desactivarse durante la ejecución de tareas. El CAD fue uno de los primeros sistemas identificados en los estudios de RMf-reposo y el más reproducido en diversos laboratorios.

Además, en los últimos años se observó que este circuito está subdividido en dos: el subsistema dorsomedial prefrontal y el subsistema temporal medial (Fig. 5-12). El primero se activa cuando las personas están llevando a cabo procesos cognitivos que están relacionados con la percepción de uno mismo en el presente; en cambio, el segundo está más relacionado con las proyecciones de sí mismo hacia el futuro.

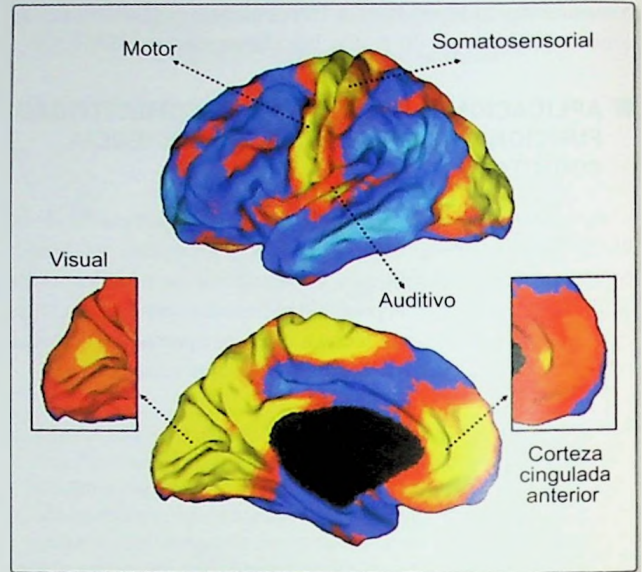


Figura 5-11. Se ilustran algunos de los circuitos funcionales cerebrales más comunes: somatosensorial, motor, visual, auditivo y la corteza cingulada anterior [región fundamental del circuito de activación por defecto [CAD]].

En 2001, Marcus Raichle fue el primer neurocientífico en utilizar el término *default mode* o «por defecto» para describir las funciones en estado de reposo. Desde entonces, este concepto se convirtió rápidamente en un tema de interés para la neurociencia cognitiva. Debido a que el CAD fue la primera red intrínseca en describirse, es el circuito más estudiado en profundidad y, además, se ha relacionado con ciertos trastornos clínicos. Sin embargo, es importante destacar que no es el único sistema funcional que exhibe fluctuaciones espontáneas coherentes en estado de reposo. Hoy en día se ha observado que muchos de los sistemas corticales documentados anteriormente por estudios anatómicos o de RMf-tarea están activos en estado de reposo.

Otros circuitos

Además del CAD, se han detectado conjuntos de áreas cerebrales que están conectadas funcionalmente formando



El CAD es un sistema cerebral que está definido por regiones interconectadas, normalmente activadas mientras una persona realiza tareas internas como el soñar despierto, imaginarse el futuro, recordar y formar perspectivas de lo externo. También se ha observado que este circuito se encuentra más activado cuando una persona pierde por momentos la atención focalizada o dirigida; podría decirse que se activa cuando existe una relajación de las funciones mentales. Se ha observado también la existencia de este circuito durante diferentes estados de conciencia y no sólo en seres humanos, sino también en primates. Las regiones que conforman esta red son: corteza frontal ventromedial y dorsomedial, cíngulo anterior (incluyendo partes subgenuales, pregenuales y supragenuales), cíngulo posterior, *precuneus*, corteza parietal lateral e hipocampo.

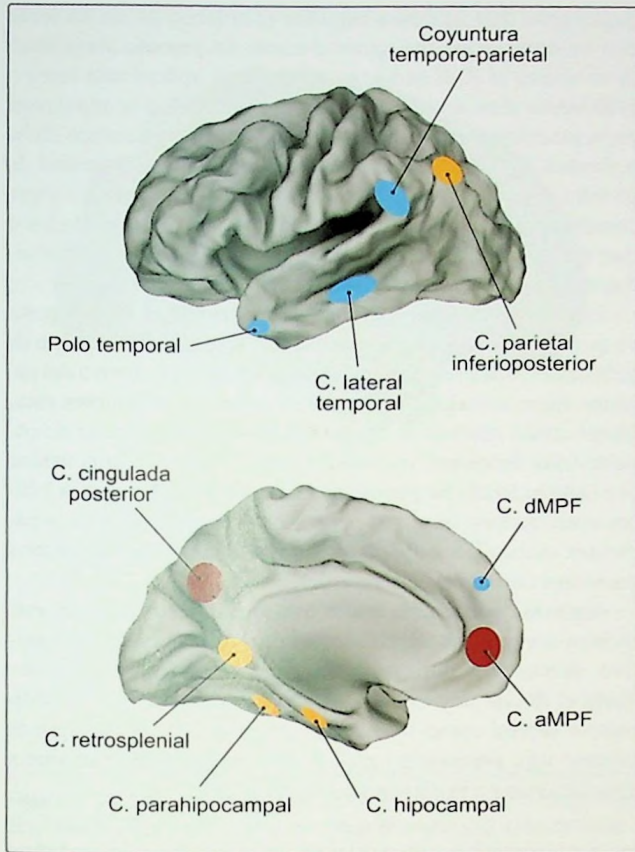


Figura 5-12. Subdivisión del circuito de activación por defecto (CAD). En color rojo se muestran los dos nodos centrales del CAD que están conectadas con los demás nodos del circuito; en amarillo, los nodos que conforman el subcircuito medial temporal encargado principalmente de proyecciones de uno mismo en el futuro, y en azul, los nodos que integran el subcircuito dorsomedial prefrontal relacionado con las percepciones de sí mismo en el presente.

circuitos. Estos circuitos funcionales están estrechamente relacionados con los circuitos anatómicos que ya han sido bien documentados. Sin embargo, la conexión entre sistemas funcionales está influida por los procesos o tareas que la persona ha llevado a cabo a través de su vida. Por ejemplo, se sabe que el área motora derecha está conectada anatómicamente con el área motora izquierda. En cambio, en términos de funcionalidad, se observa que la mayor conexión entre estas dos regiones dependerá de la experiencia vivida y de lo mucho que se haya utilizado este circuito en procesos motores.

El circuito motor (Fig. 5-11) está encargado principalmente del control del movimiento corporal y de la activación de los músculos, y está compuesto por las siguientes áreas: áreas premotoras de la corteza, ganglios basales y cerebelo. Mediante la RMf-reposo se ha podido ver cómo este sistema está funcionalmente conectado, mostrando correlaciones de las fluctuaciones de baja frecuencia entre diferentes regiones como la corteza primaria motora, la corteza sensorial primaria y secundaria, la corteza ventromedial sensorial, la corteza premotora, el tálamo y el cerebelo. Esto reafirma que estas

áreas se activan en conjunto durante procesos de ejecución motora y que, curiosamente, permanecen comunicadas cuando se analizan en estado de reposo y no sólo en períodos de actividad.

De igual forma, se han observado otros circuitos encargados de funciones básicas, como los sistemas visual, auditivo (Fig. 5-11) y de lenguaje.

También existen circuitos de orden superior que se utilizan para llevar a cabo funciones ejecutivas más elaboradas, por ejemplo, procesos asociados a la atención. Corbetta y Shulman, en 2002, destacaron la existencia de un sistema dual atencional en estado de reposo, compuesto por dos diferentes subsistemas: el dorsal atencional y el ventral atencional. Estos circuitos son los encargados de mediar principalmente la atención visual. Con respecto al sistema dorsal, se ha comprobado que desempeña un papel importante en la selección de información sensorial y la respuesta a estímulos. Las principales áreas que lo conforman son el surco intraparietal y la unión de los surcos precentral y superior frontal (también denominado campo visual frontal). El sistema ventral, constituido por la unión temporoparietal y la corteza ventral frontal, se encarga de detectar los estímulos relevantes. Estos dos subsistemas o circuitos han sido encontrados y en diferentes grupos de personas en estado de reposo.

Aunque en este apartado se están describiendo algunos circuitos, en la última década se ha demostrado la existencia de más sistemas o componentes. De hecho, en algunas publicaciones se han encontrado hasta un total de 42 subcircuitos. Como ya se ha mencionado en el apartado anterior, las técnicas de análisis están en constante avance y se espera que en un futuro próximo se indague en profundidad en cuanto al número de estos circuitos y sus funciones, de modo que el descubrimiento de las vías funcionales y sus diferentes papeles en los procesos mentales permita entender lo que ocurre a nivel basal en el cerebro humano.

Circuitos en anticorrelación

Algunos de los circuitos que se han comentado se observan no sólo en estado de reposo, sino que también se activan en el transcurso de aquellas tareas que requieren de su funcionamiento (p. ej., en estado de reposo el sistema motor permanece sincronizado, aunque –por supuesto– también se capta la activación en este sistema cuando el individuo está realizando una actividad motora).



Estas relaciones competitivas y a la vez sincronizadas entre dos circuitos se denominan anticorrelaciones o desactivaciones (o en oposición de período). Un ejemplo claro es lo que ocurre entre el CAD y el circuito ejecutivo, encargado de procesos de ejecución y atencionales. El CAD, como ya se ha mencionado, tiende a estar más activado durante el estado de reposo, mientras que el circuito ejecutivo se activa más durante la ejecución de una tarea atencional; por lo tanto, estos circuitos muestran patrones de activación opuestos, de modo que mientras el primero está activado el segundo está desactivado, y viceversa.

Un hecho curioso observado en diferentes laboratorios es que, cuando un circuito se activa, su señal es captada al analizar la señal de otros circuitos, que –pese a no ser utilizados en ese momento– se muestran desactivados (es importante destacar que desactivación no implica desconexión).

Aunque todavía no queda claro por qué ciertas redes muestran tales anticorrelaciones, se piensa que puede estar relacionado con la necesidad de optimizar la eficiencia de recursos cerebrales escasos para realizar procesamientos de alta complejidad (Fig. 5-13).

Trastornos neuropsiquiátricos y su relación con la resonancia magnética funcional en reposo

El estudio el cerebro como un circuito o conjunto de circuitos abre una puerta para relacionar esta información con los comportamientos humanos y determinar cómo estas relaciones se alteran ante la presencia de trastornos clínicos. Como ya se ha mencionado, existen muchas ventajas con la aplicación de la RMf-reposo sobre la RMf-tarea; sin duda, la principal es que puede ser aplicada con mucha facilidad en la práctica clínica y a personas que padecen alguna enfermedad mental.

En la reciente década, los investigadores han cambiado el foco de atención en la identificación de anomalías cerebrales en grupos de poblaciones clínicas, centrándose en la actualidad en la identificación de conexiones y desconexiones entre distintas regiones cerebrales, lo cual es posible haciendo uso de la RMf-reposo. Esta última, a diferencia de la RMf-tarea, ha permitido extender su uso a pacientes que hasta el momento eran difíciles de estudiar por el grado de afectación cognitiva, debido a la ausencia de tarea durante su aplicación.

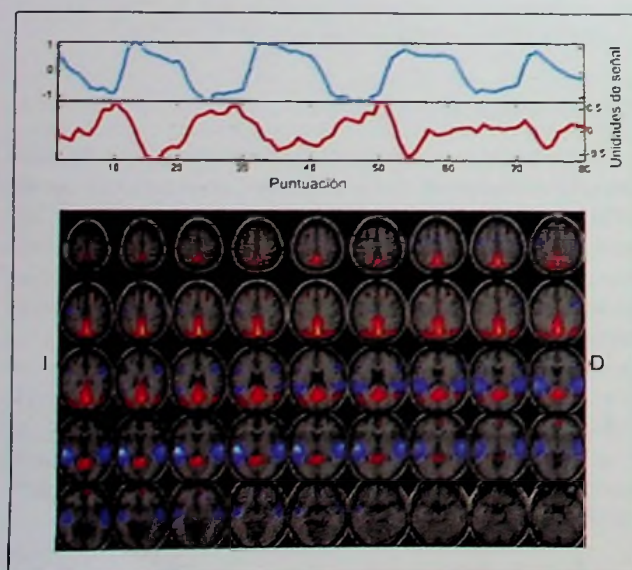


Figura 5-13. Se muestran dos circuitos que se encuentran anticorrelacionados, más concretamente, el circuito *task-positive* (color azul) y el circuito de activación por defecto (CAD) (color rojo). D: derecho; I: izquierdo. Resultado perteneciente a un estudio de resonancia magnética funcional con paradigma de estimulación auditiva [diseñado por San Juan et al., 2006], presentado en bloques alternados de tarea y reposo.

Supóngase que se desea estudiar el cerebro de un paciente con trastorno cognitivo grave durante un proceso atencional. Si se utiliza la RMf-tarea, se tendrá que aplicar una tarea o paradigma atencional y hacer que el individuo se mantenga en la máquina durante al menos 15 minutos realizando dicha actividad. En este caso, podría enumerarse una infinidad de problemas posibles, por ejemplo, que el paciente no logre completar la tarea atencional debido a sus incapacidades o que se sienta incomodado por el tiempo de captura de la señal, durante el cual deberá estar dentro de la máquina.

Este tipo de problemas se evita utilizando la RMf-reposo, ya que la persona no tiene que estar realizando ningún tipo de actividad y, además, permanece menos tiempo dentro del escáner. Estas ventajas han permitido a los investigadores establecer como objetivo la búsqueda de un biomarcador de conectividad funcional, midiendo el índice de esta conectividad por cada individuo y, posteriormente, comparando estos índices entre grupos (p. ej., pacientes con demencias frente a pacientes «sanos», o pacientes con demencia temporal frente a pacientes con demencia vascular).

Algunas de las poblaciones que se han estudiado con esta técnica son grupos de niños, pacientes con deterioro cognitivo, demencias, depresión mayor y esquizofrenia. Aunque hasta el día de hoy es un reto decir con certeza que la RMf-reposo servirá como herramienta clínica, al menos sí puede tenerse una perspectiva global de las futuras aplicaciones y aportaciones en la clínica (Recuadro 5-1).

Demencias

La demencia es un trastorno mental caracterizado por la pérdida de múltiples funciones cognoscitivas y emocionales que interfieren en el buen funcionamiento diario y en la calidad de vida de la población adulta mayor. Existen diferentes tipos de demencias y cada una está relacionada con deterioros cognoscitivos específicos. Por todo lo anterior, muchos investigadores de diferentes ramas han dedicado su tiempo a tratar de entender su prevalencia, los factores de riesgo y sus causas, para de esta forma mejorar los diagnósticos y contribuir eficazmente a los tratamientos. En la actualidad, la RMf-reposo sirve como herramienta valiosa para identificar disfunciones o desconexiones de diversos circuitos neuronales, relacionados a su vez con la neurodegeneración de funciones cognoscitivas específicas entre las distintas clases de demencias. Un ejemplo de esto es el estudio realizado en 2009 por Seeley et al., quienes analizaron cinco grupos con diferentes enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal, demencia semántica, afasia progresiva no afluyente y síndrome corticobasal). Mediante el análisis de RMf-reposo comprobaron la hipótesis de que cada subgrupo, con su respectiva disfunción cognitiva, estaba relacionado con disfunciones de distintos circuitos neuronales. Los circuitos más afectados fueron los que se muestran en la figura 5-14.

Entre todos los tipos de demencia, la enfermedad de Alzheimer se conoce como el síndrome más paradigmático de desconexión, ya que incluso en estudios neuroanatómicos se ha demostrado una interrupción de las asas aferentes y eferentes entre el hipocampo y otras áreas cerebrales. Debido a que el área más relacionada con esta enfermedad es el hipo-

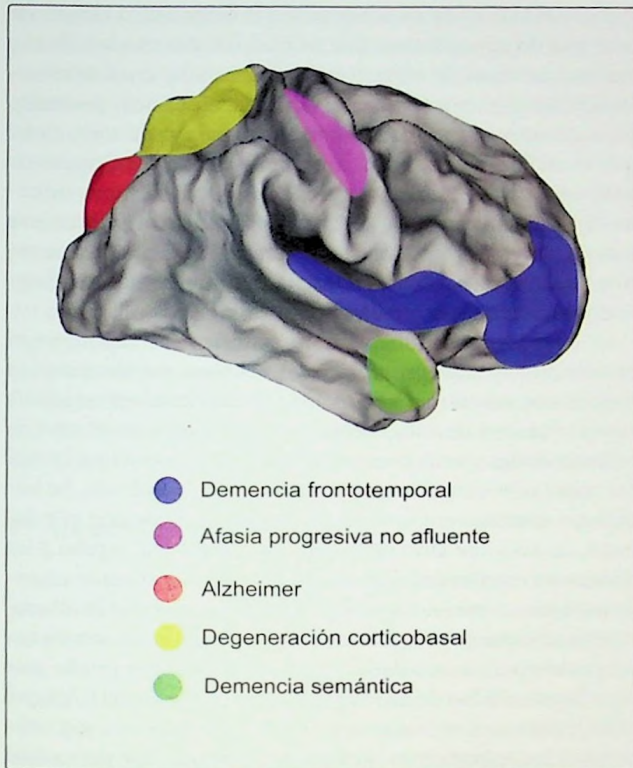


Figura 5-14. Representación del análisis de resonancia magnética funcional en estado de reposo en cinco diferentes grupos de enfermedades neurodegenerativas. Los diferentes colores denotan las anomalías en las regiones o circuitos funcionales que identifican a cada grupo de enfermedades.

campo, los estudios de RMf-reposo se han centrado en analizar fundamentalmente el CAD, circuito en el que el hipocampo tiene un papel fundamental, encontrándose una menor conectividad entre regiones pertenecientes a este circuito, principalmente la corteza cingulada posterior y el hipocampo. Estos hallazgos permiten el uso de los índices de conectividad funcional espontánea del hipocampo como marcador preclínico de la enfermedad.

Depresión

En el caso de la depresión, estudios previos de neuroimagen estructural han mostrado tres regiones especialmente implicadas: el tálamo medial, la amígdala y el pálido estriado. Es por ello que se han seleccionado estas regiones para el estudio de la conectividad funcional mediante RMf-tarea inducida en depresión, y se ha comprobado una desconexión entre dichas áreas y la corteza cingulada dorsal anterior. Estos resultados refuerzan el modelo de desregulación limbocortical como principal paradigma de la depresión.

En 2010, Greicius et al., interesados en el estudio del comportamiento del CAD en pacientes con depresión, hallaron una conectividad anormal en áreas como el cíngulo subgenual y el tálamo.

Como puede apreciarse, la conectividad funcional en estado de reposo puede servir como guía terapéutica para pa-

cientes con depresión refractaria y, además, abre nuevas expectativas al tratar ésta como un marcador de la evolución de la enfermedad, ya que la región subgenual está relacionada con la duración del episodio depresivo; es decir, cuanto más tiempo dura la depresión, mayor es la conectividad subgenual con el circuito de activación por defecto. Otro de los circuitos implicados en este trastorno es el circuito afectivo, en particular regiones como la ínsula y la amígdala.

Esquizofrenia

Aunque se dice con frecuencia que la esquizofrenia es un síndrome de desconexión, los estudios de RMf-reposo hasta el momento no han arrojado evidencias consistentes al respecto para apoyar esta hipótesis. La mayoría de los trabajos se han centrado en analizar el CAD de pacientes con esquizofrenia, concretamente la corteza prefrontal dorsolateral derecha y la corteza cingulada posterior/*precuneus*, y lo han comparado con el CAD de individuos sin el trastorno. Los resultados no han sido congruentes a lo largo de los diferentes estudios, ya que mientras unos han encontrado conectividad incrementada, otros han encontrado lo contrario. Estos resultados dispares abren nuevas interpretaciones sobre la esquizofrenia, considerándola no sólo como un simple síndrome por desconexión, sino como algo más complejo. La incongruencia de los hallazgos podría explicarse por la complejidad de la propia enfermedad, tanto por la variedad sintomática como por la diferencia en los estadios de su evolución. Por otro lado, también es importante tener en cuenta que no es posible obtener resonancias funcionales de pacientes psicóticos que no estén siendo tratados con fármacos potentes. Aunque no se ha comprobado, diferencias en la selección de pacientes y en los tratamientos usados pueden causar la falta de congruencia en los resultados que se obtienen.

Otros trastornos

Además de los trastornos neuropsiquiátricos ya mencionados, se ha estudiado también la conectividad funcional en estado de reposo en otras enfermedades y procesos. La mayoría de los estudios se han centrado en la desconexión del CAD. Sin embargo, poco a poco se ha abierto la puerta al estudio de la organización funcional de todo el cerebro en diferentes trastornos, por ejemplo, en el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) (v. Material web. Contenido complementario. Neuroimagen funcional en trastorno por déficit de atención con hiperactividad), autismo, trastorno de ansiedad, Parkinson, esclerosis múltiple, síndrome de Tourette, epilepsia, etc. Por otro lado, también esta técnica ha servido para estudiar cambios en el neurodesarrollo infantil e, incluso, diferentes estados de conciencia (p. ej., pacientes en estado de coma).

Preparación prequirúrgica

Otra de las aplicaciones clínicas de la RMf-reposo se enmarca dentro del contexto de la neurocirugía, pues la técnica sirve como herramienta para planificar la estrategia que se ha de seguir durante una intervención quirúrgica. La relevancia de RMf-reposo dentro de este campo es muy reciente y ha

sido aún poco utilizada; sin embargo, en los estudios realizados hasta la fecha se aprecia su potencial aplicación en un futuro próximo como herramienta preneuroquirúrgica y pos-neuroquirúrgica.

La neuroimagen en RMf-tarea es utilizada por muchos neurocirujanos para delinear la localización de la región dañada y no abordar quirúrgicamente regiones cercanas a la lesión pero funcionalmente importantes. Supóngase que se ha encontrado un tumor cerca del área motora en el hemisferio izquierdo; por lo general, se aplica una RMf-tarea al paciente antes de realizar el abordaje quirúrgico, mientras realiza una tarea motora simple (*tapping*). El resultado de las imágenes paramétricas típicas de la RMf-tarea da una idea al cirujano de los daños de este circuito motor cerebral y ayuda a plantear la estrategia de intervención. Este ejemplo específico suele ser de resolución simple, ya que se trata de una tarea sencilla; sin embargo, existen casos de pacientes con anomalías neurológicas graves que en el momento de requerir intervención quirúrgica no pueden ni siquiera realizar ese tipo de tareas simples, por la gravedad del daño. Es en estos casos cuando la RMf-reposo parece ser una herramienta prometedora, debido a que incluso cuando el paciente está bajo efectos de anestesia se le puede realizar esta técnica para indagar la conectividad funcional en circuitos que sean de interés para el médico y, así, poder planificar la cirugía. Por otro lado, también se pueden llevar a cabo adquisiciones RMf-posquirúrgicas para entender mejor los efectos en el paciente después de la intervención.

Recientemente, Liu et al. analizaron a 6 pacientes con tumores y focos epilépticos cercanos a la corteza motora y candidatos a intervención neuroquirúrgica. Se les realizó tanto una RMf-tarea mediante un paradigma motor como una RMf-reposo. Los resultados que obtuvieron con ambos métodos fueron de gran similitud en un mismo paciente y pudieron observar cómo la RMf-reposo también es capaz de captar los circuitos motores sin hacer uso de ninguna tarea (p. ej., de la mano o de la lengua).

Para concluir este apartado, debe comentarse que en neurocirugía la técnica de la RMf-reposo está empezando a ser explorada, con resultados prometedores; sin embargo, es necesario investigar muestras más numerosas de pacientes y con diferentes trastornos, para que pueda ser considerada una herramienta fiable que facilite estrategias quirúrgicas más eficaces.

Perspectivas futuras para la aplicación clínica

Aunque, hasta la fecha, la comparación entre grupos ha sido la técnica más utilizada para llegar a conclusiones e inferencias sobre determinadas enfermedades, actualmente se ha abierto una nueva forma de relacionar las diferencias en conectividad funcional con variables clínicas de manera dimensional y no meramente con conjuntos de síntomas. Por ejemplo, si se relaciona la falta de conexión de un circuito determinado con el hecho de ser menos atento, este hallazgo implica a ese circuito en varias enfermedades (p. ej. TDAH, ciertos tipos de esquizofrenia, demencia, etc.). Esta perspectiva lleva a pensar que esta técnica tiene una gran relevancia en el área clínica.

De lo anterior se deduce que también podrán realizarse comparaciones o segregaciones dentro de los grupos. Por ejemplo, en el caso de la esquizofrenia, debido a su gran he-

terogeneidad, es difícil ser sensible al diagnóstico clínico, así que una de las opciones que se podrían dar es identificar o extraer patrones de conectividad funcional y analizarlos estadísticamente, por medio del estudio poblacional de cientos de pacientes con diferentes esquizofrenias, de manera tal que el análisis pueda aportar diferencias entre los grupos de pacientes, clasificándolos por similitud de patrones de conectividad funcional. De esta manera, sería posible acercarse más a la comprensión de los trastornos desde una perspectiva más neurobiológica y no solamente basada en el diagnóstico clínico.

A pesar de la promesa del uso de la RMf-reposo en el campo clínico, todavía hay muchos objetivos por alcanzar. Los numerosos estudios de conectividad funcional en estado de reposo carecen de congruencia, especialmente en el caso de enfermedades como la esquizofrenia, con respecto a la cual los resultados son aún muy contradictorios. Además, ha habido un excesivo enfoque en el circuito de activación por defecto, dejando de lado otras redes en estado de reposo y las relaciones entre redes. Este enfoque es muy apropiado en enfermedades como el Alzheimer, ya que se conocen las alteraciones anatomopatológicas en esta región, pero no resulta tan acertado en otras entidades nosológicas. Todavía queda muy lejos la posibilidad de asociar alteraciones únicas del CAD con cada trastorno. Las líneas actuales de investigación, con referencia a las aplicaciones clínicas, están en una fase muy inicial y muchos estudios de RMf-reposo difieren en la metodología y las condiciones llevadas a cabo, por lo que se hace necesario reproducir los estudios en poblaciones más extensas y homogeneizar la metodología, lo cual se analizará con más detalle a continuación.

■ ESTABLECIMIENTO DE REPOSITARIOS ABIERTOS DE DATOS A ESCALA GLOBAL

A pesar de que el número de estudios en el mundo ha aumentado considerablemente en muy poco tiempo, el campo está en sus comienzos y las técnicas de análisis se encuentran en desarrollo. Es por esto que es crucial la colaboración entre laboratorios o instituciones que se dediquen al análisis de la conectividad funcional en estado de reposo, para empezar a entender la arquitectura funcional del cerebro humano.

Por lo anterior, recientemente ha surgido la motivación para crear bases de datos en los que se compartan a gran escala datos de RMf-reposo entre diversos grupos a nivel mundial, dejando estas bases de datos abiertas para que sean analizadas por quien tenga el interés y conocimiento para hacerlo. De esta manera se ayudará a confirmar y comparar los resultados. Los proyectos colaborativos abren en la actualidad una nueva perspectiva que anticipa avances acelerados en la ciencia y mayor especificidad en las anomalías cerebrales que están detrás de las enfermedades mentales.

Antecedentes

En 2009, fue cuando Timothy Gowers, un matemático procedente de la Universidad de Cambridge, propuso una nueva metodología para resolver un problema matemático complejo. En lugar de lanzar la búsqueda de la solución a través de

sus alumnos, presentó el postulado de la pregunta en su blog personal y pidió colaboración a todo aquel que estuviese interesado. A los 37 días, con la colaboración de todos los investigadores que quisieron participar, declaró que el problema se había resuelto, y todo gracias a la apertura al mundo de la colaboración científica.

Esto pudo ser el gran salto que necesitaba la ciencia para evolucionar: que todos los científicos utilicen el potencial de Internet, las redes sociales y la expansión de los resultados a través del concepto *colaboración*. Esta nueva forma de entender la ciencia, integrando equipos científicos de distintos laboratorios para abordar de forma colaborativa las grandes cuestiones científicas, está tomando cada vez más y más fuerza. El Proyecto Polymath fue todo un éxito y es el comienzo de lo que hoy se conoce como *open science* (v. Material web. Enlaces de interés. Sobre conectividad. Información de *open science*).

Principales ventajas

Las ventajas y los beneficios de este paradigma son múltiples. El más importante está relacionado con la necesidad de obtener tamaños de muestra suficientes para llegar a resultados más precisos. La disponibilidad de datos y algoritmos en abierto y libre también acelera el progreso, porque los errores son fáciles de encontrar y se comunican inmediatamente. Lo que es aún más importante, los nuevos métodos se difunden de manera casi inmediata y pueden ser aprendidos y comprobados por todos los que estén interesados en el tema. La disponibilidad de los datos disponibles facilita la participación de científicos de distintas disciplinas, los cuales llegan a trabajar en temas que no habían considerado antes. De esta manera, se involucran bioinformáticos, estadísticos, físicos, matemáticos e ingenieros de *software* y de biomedicina.

El estudio de un fenómeno tan importante como la conectividad funcional cerebral por medio de la RMf-reposo está revolucionando la neurociencia clínica y la neuropsiquiatría. A través de la neurociencia abierta se propone romper las barreras que separan a los científicos y, de forma ideal, poner en común las ideas de la comunidad científica y sus descubrimientos de forma más eficaz. La palabra clave es *cooperación*.

A medida que estas ideas se consolidan, más tarde o más temprano la ciencia en abierto tendrá un lugar preponderante dentro de la comunidad científica. Es probable que todavía falte tiempo para realizar esta transición hacia una nueva mentalidad, pero estamos seguros que esta nueva orientación permitirá conocer con mayor detalle la compleja dinámica del cerebro humano. La razón por la cual es importante unificar grandes volúmenes de bases de datos es poder afrontar la inmensa variabilidad en fenotipos, factores genéticos de riesgo e índices cerebrales de todo tipo. Para entender cómo los factores genéticos y ambientales se relacionan en los numerosos circuitos cerebrales y cómo de éstos se deducen determinadas manifestaciones de comportamiento y psicológicas, es necesario contar con bases de datos de decenas de miles de personas, bien definidas y con secuencias de resonancia adquiridas tanto anatómicas como funcionales. Los datos obtenidos por medio de la RMf-reposo tienen la ventaja de ser adquiridos a gran escala, lo que permite llegar a juntar el gran número de

muestras que se necesitan para establecer inferencias poblacionales, como se describe a continuación.

Banco de imágenes de propósito general

El primer proyecto del que se tiene constancia de comparación de datos en RMf-reposo es el *1000 Functional Connectome Project*, 1000 FCP (v. Material web. Contenido complementario. Redes colaborativas de datos de conectividad funcional en estado de reposo). Estas iniciativas globales en espacios públicos, en las que se comparten datos y conocimientos dentro de Internet, van captando cada vez más adeptos. Este conjunto de datos (*data-set*) mundial está compuesto por 35 centros de investigación de salud muy reconocidos a nivel internacional, y cabe destacar su fácil acceso y contribución. Además, se ha comenzado a definir algunos biomarcadores específicos de conectividad funcional que empiezan a estandarizarse, como en el índice de conectividad funcional cerebral (ICFC), que aporta diferencias en los patrones de conectividad cerebral intrínseca detectados entre varones y mujeres. Además, se han podido establecer y percibir cambios en el ICFC a través de las diferentes etapas del desarrollo en la conectividad funcional infantil.

La abrumadora respuesta a la liberación de este *data-set* ha demostrado la sed de datos de los investigadores. El acceso a gran escala de grandes conjuntos de datos es uno de los mayores obstáculos a los que se enfrenta la comunidad científica en neuroimagen, y a través de este proyecto se ha comprobado que esta escasez se puede superar con iniciativas de este calibre. Como paso siguiente, se ha propuesto la iniciativa INDI (v. Material web. Contenido complementario. Redes colaborativas de datos de conectividad funcional en estado de reposo), que pretende continuar con la labor iniciada con la primera muestra, pero ampliando el intercambio a información fenotípica en muestras tanto clínicas como no clínicas. Este enfoque es fundamental para la obtención de medidas objetivas en la función cerebral y, sobre todo, para detectar, cuantificar y vigilar aquellos procesos fisiopatológicos subyacentes en enfermedades neurológicas y psiquiátricas.



El objetivo fundamental de la iniciativa INDI es: «Marcar el comienzo de una nueva era de descubrimientos científicos para el estudio de la función cerebral humana a través del intercambio de datos proporcionados por la comunidad científica de neuroimagen».

Incremento de conjuntos de datos patológicos compartidos

Como ya se ha señalado, se está avanzando hacia una nueva era de conocimiento de la función cerebral, que se consolidó con el proyecto inicial 1000 FCP en diciembre de 2009. El entusiasmo que esta descarga de datos generó, cuantificado en términos de páginas visitadas y descargas, animó a este equipo de científicos a ampliar esta iniciativa a través de INDI, lanzado en octubre de 2010. Además, hay que destacar que, incluidos en todo el conjunto de datos publicados, se incluyen

285 muestras de niños con Trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH). Hasta la fecha actual, más de 2.631 muestras de datos de RMf-reposo se encuentran disponibles para su descarga a través de la página web del *Functional Connectome Project*.

Para concluir, lo más destacable de los proyectos colaborativos en los que se pretende compartir tanto información como conocimiento es que abren la posibilidad de generar ciencia de una manera acelerada y fiable, permitiendo que los resultados de las investigaciones repercutan directamente en el usuario final, que es el paciente (v. Material web. Contenido complementario. Red Iberoamericana de Conectividad Cerebral).

CONCLUSIONES

El cerebro humano es un circuito compuesto, a su vez, por muchos otros subcircuitos conformados por regiones distribuidas anatómicamente pero funcionalmente conectadas. Estos circuitos pueden ser observados mediante la actividad generada espontáneamente por el cerebro, que hoy en día ya puede ser medida y analizada gracias a los recientes avances tecnológicos. La resonancia magnética funcional en estado de reposo es la herramienta más utilizada para captar las fluctuaciones en la señal BOLD que denotan dicha actividad intrínseca cerebral. En la última década (2002-2012) se ha incrementado considerablemente el número de estudios en neuroimagen que exploran estas señales en diferentes regiones cerebrales, sus conexiones formando circuitos y las relaciones de estos circuitos con procesos cognitivos específicos. En la actualidad se asiste al comienzo del desarrollo de un nuevo paradigma que permite abordar desde otra perspectiva el estudio del cerebro humano y comprender mejor los correlatos neuronales y las disfunciones entre circuitos asociadas a diferentes trastornos y enfermedades. La nueva perspectiva de *open science* y de ciencia en colaboración facilita la conformación de grandes bases de datos para realizar estudios masivos y, de esa manera, obtener resultados más fiables y directamente aplicables a los pacientes con algún tipo de anomalía cerebral. La comprensión de la actividad espontánea del cerebro humano y su abordaje mediante las técnicas presentadas en este capítulo brindan un puente crucial entre la investigación en neurociencia cognitiva y la aplicación clínica.

BIBLIOGRAFÍA

Artículos originales

- Andrews-Hanna JR, Reidler JS, Sepulcre J et al. Functional-anatomic fractionation of the brain's default network. *Neuron* 2010;65:550-62.
- Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med* 1995;34:537-41.
- Biswal BB, Mennes M, Zuo XN et al. Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:4734-9.
- Bottger J, Margulies DS, Horn P et al. A software tool for interactive exploration of intrinsic functional connectivity opens new perspectives for brain surgery. *Acta Neurochir (Wien)* 2011;153:1561-72.
- Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann NY Acad Sci* 2008;1124:1-38.
- Corbetta M, Shulman GL. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 2002;3(3):201-15.
- Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:13848-53.
- de la Iglesia-Vaya M, Molina-Mateo J, Escarti-Fabra MJ et al. [Magnetic resonance imaging postprocessing techniques in the study of brain connectivity.] *Radiologia* 2011;53:236-45.
- Fair DA, Dosenbach NU, Church JA et al. Development of distinct control networks through segregation and integration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:13507-12.
- Fox MD, Greicius M. Clinical applications of resting state functional connectivity. *Front Syst Neurosci* 2010;4:19.
- Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci* 2007;8:700-11.
- Greicius M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Neurol* 2008;21:424-30.
- Hagmann P, Cammoun L, Gigandet X et al. Mapping the structural code of human cerebral cortex. *PLoS Biol* 2008;6:e159.
- Proal E, Álvarez-Segura M, de la Iglesia-Vaya M et al. Actividad funcional cerebral en estado de reposo: redes en conexión. *Rev Neurol* 2011;52:S3-S10.
- Seeley WW, Crawford RK, Zhou J et al. Neurodegenerative diseases target large-scale human brain networks. *Neuron* 2009;62:42-52.
- Shehzad Z, Kelly AM, Reiss PT, Gee DG et al. The resting brain: unconstrained yet reliable. *Cereb Cortex* 2009;19:2209-29.
- Tyszka JM, Kennedy DP, Adolphs R, Paul LK. Intact bilateral resting-state networks in the absence of the corpus callosum. *J Neurosci* 2011;31:15154-62.
- Van Dijk KR, Hedden T, Venkataraman A et al. Intrinsic functional connectivity as a tool for human connectomics: theory, properties, and optimization. *J Neurophysiol* 2010;103:297-321.
- Wang J, Zuo X, He Y. Graph-based network analysis of resting-state functional MRI. *Front Syst Neurosci* 2010;4:16.
- Yeo BT, Krienen FM, Sepulcre J et al. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol* 2011;106:1125-65.
- Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED et al. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain* 2010;133:1352-67.

Libros

- Hyvärinen A, Karhunen J, Oja E. Independent Component Analysis. New York: Wiley-Interscience, 2001. Disponible en: <http://www.amazon.com/Independent-Component-Analysis-Aapo-rinen/dp/047140540X>.